第 XXII 巻, 第 3 号

Vol. XXII, No. 3

日本植物病理學會報©

ANNALS OF THE PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

昭和 32 年 11 月

November 1957

日本植物病理學會

THE PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

東京

TOKYO

日本植物病理学会報　第XXII巻　第3号

目　　次

原　著

雑　録

胡瓜炭疽病抵抗性の品種間差異と病原菌の侵入時の行動*

赤井重恭・寺沢 迢**

Shigeyasu Akai and Haruka Terasawa: The varietal resistance of cucumber to anthracnose and the behavior of the causal fungus in the invasion of the host tissues.

1. 緒言

Colletotrichum lagenarium による瓜類炭疽病は古く Gardner[2] によつて研究されているが，氏によれば瓜科蔬菜中キウリは感受性であつて，カボチヤ，クリカボチヤ等は抵抗性である。しかしキウリについては一般に感受性であるといわれているだけであつて品種間の罹病性の比較研究は乏しい。岩田[6] はコルヒチン処理によつて得られた4倍体のキウリが2倍体のものよりも炭疽病抵抗性であると報じたが，その原因は解明されていない。筆者等は接種試験の結果，一般に感受性とされているキウリ品種間にも発病に差がある事を認めたので，1953年5月以降その原因の一端について研究を行つた。

本実験を行うに当り種々助言を与えられた今村駿一郎教授，並びにキウリその他の種子の分譲を快諾せられた愛知県園芸試験場，兵庫県・大阪府・九州・島根県・静岡県などの各農業試験場の諸氏に深く謝意を表する。

2. 実験材料及び方法

供試菌は 1951 年8月，キウリ成葉から分離されたものである。予備実験の結果では，キウリに対して強い病原性を有するが，カボチヤ及びクリカボチヤの各品種に対しては，肉眼的病斑を形成しない。

接種及び発芽試験に供用した分生胞子は 24°C で玉蜀黍煎汁寒天培養基上に8～11日間斜面培養して得たものである。胞子懸濁液は常に再蒸溜水を用い，分生胞子発芽試験は点滴法によつて，28°C に12～14時間静置した後調査した。

3. 実験結果

(1) キウリ，カボチヤ及びクリカボチヤに対する接種試験

炭疽病に対する瓜類の抵抗性に関して，南瓜は強抵抗性であるが，キウリは一般に罹病性であつて，品種間差異は殆んど知られていない。筆者等はまず成葉に対して接種試験を行つた。

(a) **成葉に対する接種試験**: キウリ28品種，カボチヤ10品種，及びクリカボチヤ10品種について実験を行つた。どの品種も径4寸の素焼鉢に1株ずつ植え，温室で育成した。本葉が平均5枚に達した時，巻鬚及び側枝をとりさつて，葉の上面から病原菌分生胞子の懸濁液を噴霧接種した。それらの素焼鉢を約24°C の接種箱内に24時間保つた後取り出し，接種前と同様に温室内に置いて，6日後に単位面積当りの病斑数を比較した。接種は2回行つたが，各回共1品種につき3乃至6枚平均5枚の成葉を有するもの3乃至4個体を使用した（第1表）。

第1表 キウリ品種の炭疽病罹病率

品種名	単位葉面積(cm^2)当り病斑数				平均
	第1回接種		第2回接種		
	個体による変動	平均	個体による変動	平均	
津田三尺	0.15—0.24	0.19	0.21—0.69	0.39	0.29
関野2号	0.15—0.26	0.19	0.11—0.61	0.40	0.30
台湾毛馬	0.13—0.46	0.30	0.21—0.69	0.37	0.34
野生キウリ	0.15—0.54	0.36	0.19—0.53	0.35	0.36
富山三尺	0.27—0.53	0.40	—	—	—
酒田ピックル	0.05—0.53	0.27	0.34—1.11	0.60	0.44
落合	0.05—0.36	0.20	0.58—1.44	0.89	0.55

* 京都大学農学部植物病理学研究室業績 No. 66，植物炭疽病に関する研究 第1報

本報告の1部は，昭和30年（1955）日本植物病理学会で発表した。** 京都大学農学部

支那三尺	0.09—0.69	0.32	0.37—1.37	0.79	0.56
千葉青節成2号	0.25—0.55	0.36	0.51—1.09	0.81	0.59
小城	0.08—0.44	0.22	0.93—1.16	1.03	0.63
加賀青節成	0.57—0.58	0.58	0.50—1.15	0.75	0.67
関野1号	0.33—1.01	0.60	0.53—1.22	0.90	0.75
石城	0.31—0.48	0.39	0.74—1.43	1.14	0.77
久留米落合	0.14—0.86	0.52	0.53—1.01	1.02	0.77
落合青節成	0.24—0.60	0.38	0.53—1.55	1.23	0.81
Straight-8	0.61—1.12	0.82	——	—	—
大和	0.24—0.62	0.45	0.93—1.69	1.22	0.84
関野3号	0.23—0.96	0.70	0.62—1.32	1.07	0.89
ペキン	0.24—1.58	1.04	1.00—2.45	1.67	1.36
地這	0.21—0.90	0.56	1.11—3.75	2.29	1.43
相模半白節成	0.63—1.84	1.15	1.13—2.31	1.87	1.51
白節成26—4	0.81—1.43	1.26	1.79—2.51	2.18	1.72
大八刺	0.33—1.57	1.07	1.87—3.14	2.45	1.76
白節成32—5	1.21—1.90	1.59	2.08—2.55	2.37	1.98
山東	1.27—2.25	1.95	1.96—3.97	2.63	2.29
四葉	0.29—3.91	2.11	1.26—5.10	2.71	2.41
日支青長	0.95—3.05	1.66	2.25—6.48	3.74	2.70
華中在来	2.07—3.78	2.89	2.35—8.02	4.40	3.65

備考 第1回接種 1953 年9月1日，第2回同年9月2日
カボチヤ及びクリカボチヤはどの品種も肉眼的病斑を全然生じなかつたので，表に示さなかつた。

上表の如く，キウリ品種間の炭疽病罹病程度には明かな有意差が認められる。しかしこの差は連続的であるので，キウリ品種を罹病率の高低によつて，2分することは難しい。また罹病率が最も低い品種であつても，なお相当数の病斑を生ずる事から，キウリ品種の炭疽病感受性は菜豆或いはアマの炭疽病抵抗性発現とは異つた機構によるものかも知れない[5,9]。なお病斑拡大率はキウリ品種間で大差がなかつたが，一応上記2回の接種試験を通じて，常に発病が高かつた品種と低かつた品種とを各々2種ずつ選んで，それらの病斑拡大率を比較した。病斑は1個体から任意に1個を選び出して，接種後7日目から7日間に4～5回，直径を測定して平均値を求め，それから1日当りの拡大率を求めた(第2表)。

第2表 キウリ成葉における炭疽病病斑の拡大率

品種名		病斑直径拡大率 cm/day					平均
抵抗性	野生キウリ	0.07	0.09	0.17	0.14	0.10	0.11
	関野2号	0.20	0.21	0.15	0.15		0.18
感受性	四葉	0.13	0.10	0.14	0.08	0.14	0.12
	華中在来	0.17	0.23				0.20

以上の結果から，キウリ品種間の炭疽病罹病程度の差は主として病斑数によるものであつて，病斑直径の拡大率には余り関係がない。

(b) **子葉に対する接種試験**: 実験材料としては成葉よりも子葉を用いた方が遙かに利点が多いので，筆者らは子葉に対しても接種試験を行つた。20°～28°Cの温室内で育成した播種後約15日，本葉第1葉が展開直前のキウリ，カボチヤなどの苗から子葉を切り取つて，その裏面に病原菌分生胞子懸濁液を噴霧接種した。接種後，沪紙を敷いて湿室とした大型シャーレ内にそれ等の子葉を静かに入れ，そのまま24°C及び28°Cの定温器に保つた。24°Cに保つた場合には4乃至5日，28°Cの場合には3乃至4日で病徴を認めた。結果は単位面積当りの病斑数で比較したが，子葉面積は一様に楕円とみなして計算した。

有意差検定の結果では，台湾毛馬と華中在来，日支青長，四葉との間及び日支青長と四葉との間を除いた他のすべての間に危険率5％以下で有意差を認めた。

子葉に対する接種試験結果と成葉に対するそれとを比較すると，大体の傾向は一致するが全面的に平行した結果とはいい難い。しかしながら子葉についても品種間に罹病率の差がある事を認めたので，以後の実験には専ら子葉を用いて行つた。

以上のようにキウリ子葉でも抵抗性に品種間差異が認められたが，このような罹病率の差は病原菌の寄主体侵入までに，或は侵入初期の間に生ずるもののように思われる。この事は，キウリでは抵抗性品種に於て

第3表　キウリ及びカボチャの子葉に対する炭疽病菌接種試験

品種名	供試子葉数	子葉当りの病斑数の変動範囲	単位面積当病斑数
胡瓜			
津田三尺	11	1.1—3.7	2.8
華中在来	11	2.6—7.0	4.5
台湾毛馬	8	4.6—6.9	5.5
日支青長	11	4.6—7.0	5.8
四　葉	11	3.1—8.9	6.4
南瓜			
白菊座	6	0—0.6	0.2

もなお相当数の病斑が形成され，しかもそれらが可成り速かに拡大することから侵入後の病斑進展に対する抵抗性が余り認められない事に基くものである。以上に関連して筆者等は寄主体上に附着した病原菌の分生胞子総数に対する，発芽後寄主体内に侵入蔓延しうる胞子の数との関係を品種間について比較した。極く濃厚な分生胞子懸濁液と，その1部を稀釈した稀薄な懸濁液との約10滴ずつをスポイドで各子葉上に滴下し，湿室中に入れて28°Cに保つた。3日後それら水滴に就いて発病の有無を調査した（第4表）。この場合，1水滴から生じた病斑はその数を問わず1個として計算した。なお，稀薄懸濁液中には150倍顕微鏡1視野中に平均1.1個，濃厚懸濁液中には 89.0 個の胞子を含むものである。

第4表の結果ではキウリ品種間の罹病率の差は接種胞子密度の小さい時に顕著に現われ，第3表の実験結果とよく一致する。しかし高濃度の懸濁液を接種した場合には，以上のような品種間差異は消失して，すべての品種が容易に菌の侵害をうける事がわかる。

(2) キウリ品種の子葉上における病原菌の行動：上述のように炭疽病に対するキウリ品種の感受性の差は病原菌の寄主体侵入前後の短かい期間にあらわれるものと考えられるので，種々の方面からその原因を追求した。

(a) キウリ品種子葉上の水滴中における分生胞子の発芽：キウリ及びカボチャの子葉裏面上にスポイトを用いて再蒸溜水をなるべく多量滴下し，それを湿室中に，28°C下で約6時間静置した。その後，葉面上の水滴を再びスポイトを用いて採取して，その液を用いてスライド上での発芽を調査した（第5表）。その結果，葉上水滴中では，胞子の発芽が極めて悪く，再蒸溜水中よりも不良であつて品種間には有意差が認められない。即ち，葉上水滴中では供試菌分生胞子の発芽を余り促進しないようである。更に筆者等はキウリ及びカボチャ子葉の搾汁を再蒸溜水で約3倍に稀釈して分生胞子の発芽を試験した。その結果ではいずれも殆んど全部の胞子が発芽したが，附着器は生ずる事なく，発芽管だけが極めてよく伸長した。吉岡，内藤[10]は西瓜の炭疽病に関して，抵抗性物質が表皮細胞中に含有される可能性を考えているが，筆者らはキウリ数品種及び白菊座，赤皮栗南瓜を用い，その子葉裏面の表皮をはぎとつて葉肉の附着していない部分約4～6 mm² を切り取り，それをあらかじめスライド上に点滴しておいた胞子懸濁液の上に1片ずつ浮かせて発芽試験を行つた。もし表皮中に何等かの水溶性物質があれば，それが滲出して発芽に影響するものと考え，14時間後調査した（第5表）。その結果では，胞子懸濁液に何れの品種の子葉表皮の1片を加えた場合にも発芽率は却つて良好となつた。

(b) キウリ品種子葉表皮組織中での菌糸の伸長：筆者らはキウリ品種中，津田三尺，関野2号，華中在来及び四葉の4品種を用いて，子葉裏面の表皮組織中への菌糸の伸長が品種によつて異るかどうかを調査した。材料及び接種の方法は前述の通りであるが，ただ接種試験の場合よりやや濃厚な胞子懸濁液を使用した。接種後約48時間の子葉をとり出して，表皮を剝ぎとり，Anilin-blue 酷酸溶液で菌糸を青色に染色した後，1個の附着器から生じた感染菌糸が貫

第4表　稀薄及び濃厚胞子懸濁液による接種と子葉の発病程度（%）

品種	稀薄懸濁液							濃厚懸濁液						
津田三尺	0	0	0	0	0	10	10	100	100	100	100	100	100	100
酒田ピックル	0	0	10	10	20	20		100	100	100	100	100	100	
華中在来	33*	100**	20	20	20			100*	100	100	100			
四葉	10	10	30	80	90			100	100	100	100			
白菊座（カボチャ）	0	0						100***	100***					

*　6，**　8水滴を使用　***　病斑不明瞭で著しく黄変した。キウリではかかる変色はなく凹陥又は水浸状となる。

第5表　子葉上の水滴中及び表皮の1片を加えた点滴中での分生胞子の発芽

品　種	子葉上水点滴		表皮の1片を加えた点滴	
	発芽率%	附着器形成率*	発芽率%	附着器形成率**
津田三尺	45.6	99.6	98.5	4.5
関野2号	——	——	98.7	0.7
華中在来	——	——	97.2	11.1
四葉	29.6	89.5	98.4	6.9
白菊座（南瓜）	30.4	98.8	98.8	0.2
赤皮栗南瓜	——	——	99.4	0
再蒸溜水	66.8	99.7	65.4	98.6

* 発芽胞子に対する形成率（%）
** 一旦附着器を形成した後それから菌糸を生じたものの数は可成り多かつたが，除外した。

通した表皮組織細胞数を調査し，この値をもつてその菌糸の伸長度とした。各キウリ品種共に6個体から得た6枚の子葉について，子葉1枚当り約 100～200 個の菌糸について測定したが，菌糸が子葉表皮組織中で伸長蔓延する程度がキウリの品種によつて差があるとは言い難い。即ち以上の事実のみから断定は難しいが，使用したキウリ4品種とも，その表皮細胞には所謂 defence reaction が認められないようである[3]。

(c) 子葉表皮上に形成せられた附着器からの侵入率：上述のように，1感染菌糸が侵す寄主表皮細胞数に差を求め得なかつたので，更に葉上に形成せられた附着器からの侵入率を調査した。前節と同様に接種したキウリ及びカボチャについて，1品種につき5個体，5枚の子葉を選んで，接種30時間後に表皮をはぎとり，anilin-blue acetic acid 溶液で染色して，表皮上に形成せられた附着器からの侵入菌糸が侵入を完了した附着器の数を調査した。また別に顕微鏡1視野内における附着器数を測定して，それを附着器形成密度として比較した（第6表）。

第6表　子葉表皮上に形成せられた附着器からの侵入率（接種30時間後）

品　種	附着器数	同　侵入したもの	侵入率	1視野中の平均附着器数
津田三尺	1623	336	20.7	4.1
華中在来	1132	313	27.7	2.6
台湾毛馬	1408	526	37.4	4.0
日支青長	1542	634	41.1	3.7
四葉	1428	624	43.7	3.3
白菊座南瓜	1424	66	4.6	3.0

接種後30時間では，侵入菌糸を生じたものが比較的少なく，且つ生じたものも1個の寄主表皮細胞を侵すに止まつている。侵入率を arc sin 変換した後の検定結果では，供試キウリ4品種及び白菊座南瓜の間では，台湾毛馬と日支青長，四葉との間，及び四葉，日支青長間を除いて，すべて5%以下の危険率で附着器からの侵入率に有意差を認めることが出来る。一方顕微鏡1視野あたりの附着器数はキウリ及びカボチャの品種間に有意差が無く，その数値は材料によつて変動することが甚しい。

上記の実験に使用した子葉は前記第3表の接種試験に用いた材料と同一株から採取したものである。即ち1本の苗の2枚の子葉のうち，1方を接種試験に，他方を上記の実験に供したものであるから，これら両者は遺伝的にも，また発育状態の点でも同質であると考えられる。今これら2表の結果をくらべてみると，第7表の如くになり，発病と附着器からの侵入率との間に極めて顕著な正の相関が見られた。

第7表　子葉に於ける発病率と附着器からの侵入菌糸形成率との関係

	白菊座南瓜	津田三尺	華中在来	台湾毛馬	日支青長	四葉
侵入率（%）	4.6	20.3	28.8	37.0	41.2	43.7
発病率（病斑数）	0.2	2.8	4.5	5.5	5.8	6.4

備考　侵入率は子葉5枚についての平均値
　　　発病率は 6—11枚についての平均値

即ち相関係数 $r=0.996$，母相関係数 ρ の推定値として $\rho>0.916$（1% 水準）を得た。この値が極めて高く，1に近いことから，キウリ品種間発病率の差の発現機作が，その品種に対して病原菌がつくる附着器からの侵入菌糸形成率の差だけに存在するものの如く考えられる。而して，このような侵入菌糸形成率の差がどのような機構によつて生ずるものかについてはまだ追求していない。

4. 考　察

成葉に対する接種試験の結果から，キウリ品種間に炭疽病罹病性に差がある事が明らかであるが，カボチャ及びクリカボチャには病斑を生じない。そしてキウリの場合は罹病率の低いものでも相当数の病斑を生じた。なお病斑の拡大率は品種間に顕著な差が無い。子葉に対する接種試験結果でも成葉と同じく品種間に罹病率の差が見られたが，罹病率の順位は両者の間で必ずしも全面的に一致しない。また白菊座南瓜は子葉接種の場合には僅か発病した。この場合，カボチャの病斑はキウリのそれとやや異り，後者では病斑部は初期には変色しないのに対し，前者では小さい病斑の周囲が広く黄変する。

接種後48時間における子葉裏面表皮組織中での菌糸の生育状態は品種間に何等の差異がなく，また子葉搾汁或は表皮組織滲出液中における分生胞子の発芽率並びに発芽管の伸長も，品種の別がない。以上の事実から筆者らはキウリ品種間の炭疽病罹病性の差異は病原菌の侵入の過程に存するものであつて，侵入後の経過においては差を求め難いものと考えている。

栃内等[8,9]によると，菜豆炭疽病菌 *C. lindemuthianum* の分生胞子は蒸溜水中で殆んど発芽をしないが，寄主汁液を加えるとよく発芽する。筆者らの使用した瓜類炭疽病菌では分生胞子は蒸溜水中でもよく発芽するが，しかしその発芽は不安定であつて，微細な要因の変化によつても発芽率を低下する。この場合にも，寄主汁液を加えると[4,7]，発芽が著しく良好となる。吉岡等[10]によれば，西瓜の炭疽病抵抗性品種では，表皮上の分生胞子発芽率は感受性品種のそれに比して著しく不良である。しかし筆者らの実験範囲内では，キウリにはこのような事実を認めない。しかして寄主体上で分生胞子が発芽し，附着器を生ずるまでの段階には品種間に差異をもたらす原因を考え難い。

接種30時間後の観察では，附着器から侵入菌糸を生じて寄主表皮細胞内に侵入を完了したものは尚極めて多いとはいい難い。しかし，附着器からの侵入菌糸形成率は品種によつて異り，かつ接種試験の結果得られた罹病率（単位面積あたりの病斑数）との間に極めて高い相関が認められる。以上の事からキウリ子葉における炭疽病罹病率の品種間差異は附着器からの侵入菌糸形成率の差に帰せしめる事が出来るようである。なお罹病率の低いキウリ品種において，病原菌の侵入率が低い事については，寄主細胞原形質の有する抵抗性，細胞内含有物質の抗菌作用，クチクラその他の部分の菌の分泌酵素に対する化学的特異性，或は単なる機械的侵入抵抗などが考えられるが[1,3]，これらの点に関してはまだ追求を試みていない。

5. 摘　　要

本論文ではキウリの炭疽病罹病率の品種間差異を主として子葉について追求し，更に炭疽病菌に対して強抵抗性のカボチャ及びクリカボチャをも比較として併せ用いた。

1)　成葉に対する接種試験の結果はカボチャ及びクリカボチャは共に発病せず，キウリは供試28品種共発病した。而してキウリ品種について単位葉面積当りの病斑数を比較した結果は，津田三尺，関野2号，酒田ピックル，台湾毛馬，野生キウリらが発病程度低く，四葉，華中在来，日支青長，山東などは前者の10～15倍の病斑数を示した。

2)　病斑数に関する罹病率の品種間差異は子葉でも見られる。しかしそれは成葉におけるほど明らかなものではない。而してこの場合，カボチャ中の1品種，白菊座にも，若干発病を見た。子葉における罹病率の順位は成葉の場合とは必ずしも一致しない。

3)　病斑拡大率の品種間差異は明らかでなく，品種間に殆んど差を求め難い。

4)　子葉汁液中での分生胞子の発芽は著しく促進される。而して表皮組織中での菌糸の伸長には品種間の差が認められない。またキウリのどの品種についても菌の侵害をうけた表皮細胞は直ちに変色，壊死することなく，従つて菌糸の伸長が阻止せられることもない。この事からキウリの品種はいずれも炭疽病強感受性であると考えられる。

5)　子葉上での分生胞子の発芽率には品種間に差が無く，抵抗性のカボチャの子葉上でもよく発芽して附着器を形成する。

6)　キウリ子葉上につくられた附着器からの侵入菌糸形成率は品種間に明らかな差を認め得る。しかして侵入率と接種試験に於ける罹病率との間には極めて高い相関がある。この両者の値がよく平行する事から，キウリ品種に於ける罹病率の差は附着器からの菌糸侵入率の差に原因するものと思われ，それらは表皮の侵入抵抗に基く可能性が大きい。（1957年6月10日受理）

引　用　文　献

1)　Ainsworth, G. C., E.Oyler and W. H. Read: Ann. Appl. Biol., 25: 308～321. (1938).

2)　Gardner, M. W.: U. S. Dept. of Agr. Bull., 727: 1～68. (1918).

3)　Gäumann, E.: Principles of Plant Infection : 259～262. (1950).

4)　逸見武雄：植物病学の諸問題：374～390. (1940).

5)　Hahn, H.: Phytopath.Z., 20: 83～88. (1952).

6)　岩田吉人：農及園，22: 309～310. (1947).

7)　近藤　章・逸見武雄：滋賀農業短大学術報告，1: 19～35. (1953).

8)　栃内吉彦・沢田啓司：日植病報，16: 117～120. (1952).

9)　――・――　；日植病報，17: 49～53. (1953).

10)　吉岡昭夫・内藤　潔：日植病報，14: 90～91. (1953).

Résumé

In the present paper, the writers describe the results of the experiments on the varietal difference of the resistance of cucumber to the anthracnose disease. *Cucurbita moschata* and *C. maxima* were also used in comparison.

1. The inoculation experiments on mature leaves proved that all the varieties of cucumber used were invaded by the causal fungus. The squashes, however, were not affected by the present disease. Judging from the number of lesions in unit area of the inoculated leaves, some varieties, such as Tsuda-Sanjaku (津田三尺), Sekino No. 2 (関野2号), Sakata-Pickle, Taiwan-Kema (台湾毛馬) and wild cucumber were comparatively resistant, and Su-Yo (四葉), Kachu-Zairai (華中在来), Nisshi-Aonaga (日支青長), and San-To (山東) were susceptible, showing 10-15 times more spots than the former.

2. The varietal difference in the susceptibility was recognized also by inoculating spores on cotyledons. In this case the significant difference was not deteced more clearly than in mature leaves. The cotyledons of Shirokikuza, a variety of *C. moschata*, was also affected. Mature leaves in this variety, however, were not attacked completely.

3. The degree of developing area of spots in leaves was hardly recognized between the cucumber varieties used.

4. In the expressed sap of cotyledons of every variety the conidia germination was accelerated, and the hyphae entered into the epidermal cells developed well in every variety. In these host tissues any different reaction accompaning the necrosis and discoloration of cells was not observed, only showed at first a water-soaked appearance of the spot. From these results, all the cells of the cucumber varieties used may be in a strongly susceptible condition to the anthracnose.

5. The conidia of the causal fungus germinated well in water drops gathered from the surface of cotyledons, showing no difference between the varieties. On the cotyledons of squash the germination and the appressoria formation of conidia were also recognized.

6. The degree of penetrating hypha formation from the appressoria, formed on cotyledons of cucumcer, differed significantly among the varieties. Between the degree of penetrating hypha formation and the number of spots per unit area there is a high correlation. This presumably accounts for the difference in the susceptibility of cucumber varieties, and the susceptibility may be attributed to the resistance to the invasion of epidermis. (College of Agriculture, Kyoto University)

文献紹介

外部寄生線虫 *Xiphinema diversicaudatum* の寄生と病毒性

A. F. Schindler: Parasitism and pathogenicity of *Xiphinema diversi caudatum*, an ectoparasitic nematode. Nematologica, 11 (1) :25.(1957).

Xiphinema (dagger nematodes) は *Platylenchus* (meadow nematodes) と共に温室バラに広く認められ，萎縮を起すものとして知られている。そこでその寄生生活と病毒性を確かめるために栽培試験を行つた。そしてバラ（マネッティとベッタアタイムズ)，ナンキンマメ，ダイズ属 (*Glycine max*) 及びイチヂクに接種した。*X. diversicaudatum* がダイズの根に吸いつくことを直かに見ることによつて寄生性は証明された。また種々の寄主の根に根瘤をつくり，マネツティ及びイチヂクに接種によつて著しい生育障害を起すことで病毒性も明らかになつた。このバラ及びイチヂクの生育を阻害する不明の生物的化学的条件は，予め多数に *X. diversicaudatum* が居つた水に存するもののようである。

(河村貞之助)

瓜類炭疽病菌の寄主体侵入に就いての観察*

安盛　博**

H. YASUMORI : Some observations on the invasion of the anthracnose fungus, *Colletotrichum lagenarium* into cucumber plants.

1. 緒　論

筆者らは先に南瓜並びに種々の胡瓜品種の瓜類炭疽病に対する抵抗性の差異を，病原菌の子葉侵入率によつて比較した[1]。その結果では，子葉侵入に対する胡瓜の品種間差異は主として附着器からの穿入糸が表皮細胞内に穿入するまでの間に発現するもののようである。かかる関係は本葉に於ても同様のようであつて，本葉では病斑の拡大率よりもむしろ病斑数に大きな差異があらわれる事からも推察される。筆者は胡瓜本葉に対する病原菌の侵入経過並びに体内蔓延の状態を解剖学的に観察して，抵抗性，罹病性の品種間差異を検討しようと試みたので，一応その結果を取纏めて，諸賢の参考に供し度い。なお本研究を行うに当り，終始指導を忝うした赤井教授また種々助言を賜つた研究室員諸氏に対して深甚なる謝意を表する。

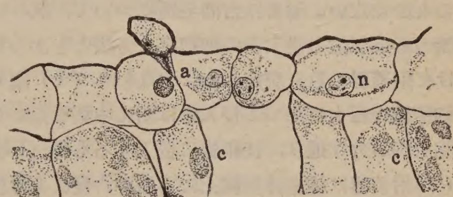
2. 実験材料及び方法

供試菌は瓜類炭疽病菌 *Colletotrichum lagenarium* Ell. et Halst. (No. 104) を用い，玉蜀黍寒天培養基上に 14～20 日間，24°C で培養した菌の分生胞子を殺菌蒸溜水で懸濁して接種源とした。供試胡瓜は四葉，及び台湾毛馬の2品種で，本葉が2～3枚展開した頃，その葉面に墨で小円を画き，その中に上記懸濁液を筆で滴下して，28°C の接種箱中に保つた。材料は24時間毎に鋏で切取り，1区につき数片ずつを直ちに以下の如く処理した。すなわち固定には Formalin-alcohol, acetic acid 混合液を用い，Butanol で脱水後，Paraffine を誘導し，5～8 μ の連続切片とした。染色は Ehrlich's Haematoxylin, 並びに Eosin を用い，Eosin 染色後の脱水は Carbol-Turpentin oil を用いた。なお表皮細胞膜クチクラ層の観察は本葉を用いて，Sudan Ⅲ 並びに Safranin 染色により，附傷接種は，本葉が3～4枚展開した頃，葉面の半分を綿に附着せしめた細かい石英砂で軽くこすり，他の一半をその対照区として，胞子懸濁液を噴霧接種した。

3. 実験結果

1) 侵入過程の解剖学的観察

品種間差異が侵入時におこるとすれば，病原菌が附着器を作り，表皮細胞内に侵入するまでの過程を観察する必要がある。筆者は以上の点について罹病性，抵抗性両品種を用いて比較観察したが，両品種間には解剖学的に差を認めない。



Fig, 1 Cross section of a leaf epidermis of Taiwan-Kema (a cucumber variety) showing the penetrating hypha arising from the appressorium which forces the way into the radial wall of the epidermal cells dissolving middle lamella. Fixed 48 hours after the inoculation. (X 850)
a : penetrating hypha, n : nucleus, c : chloroplast

a) 接種24～48時間後の解剖 接種 24 時間目の材料では，両品種共附着器形成を盛に行つているが，未だ侵入菌糸の形成は見られない。しかし附着器の直下では，細胞膜が Safranin 染色性を増大する場合を認めたが，同様なことを Gardner[3] も観察している。しかし他の組織では特別な染色性の変化は認められない。なお附着器は接種 48 時間後，発芽して侵入を完了する (Fig. 1)。

供試菌の附着器並びに侵入菌糸は極めて Eosin 嗜好性であつて，寄主体と明かに区別することができる。Fig. 1-2 に見られる如く，附着器は細胞縫合部に形成される場合が多いが，この場合侵入糸は中葉を溶解してそれを押分け，その後細胞膜を貫通して表皮細胞

---

* 京都大学農学部植物病理学研究室業績，第67号 植物炭疽病に関する研究，第2報

** 島根農科大学

内に入り，そこで菌糸は再びその太さを恢復するもののようである。(Fig. 1)。



Fig. 2 Cross secton of a leaf epidermis of Taiwan-Kema (a cucumber variety), showing the penetration of hypha arising from the appessorium. Fixed 48 hours after the inoculation. (X 850) a: appressorium, d: infection hypha

前述のように多数の附着器が細胞縫合部上に生じ侵入するが，それ等のうちには中葉を溶解して，その細胞間隙を通らないで，直に細胞内に侵入したと思われるものも少くない。筆者は台湾毛馬について，試みに附着器の形成部位と侵入糸の細胞穿入方法とを次の如く分けて附着器の数を測定した。すなわち（1）附着器は細胞縫合線上にあつて侵入糸は明に中葉を溶かして細胞を押し分け通り，後細胞に侵入するもの (Fig. 1)，（2）附着器は細胞縫合線上にあるが，侵入糸は細胞間を通つて穿入したとは認め難いもの，（3）附着器は細胞縫合線上にないもの (Fig. 2) などであつて，約 80% が細胞縫合部から中葉を溶解して侵入したと考えられるものである。

栃内・沢田等[7]は，菜豆の炭疽病菌について附着器の約 75% が細胞縫合部に作られることを報告しているが，よく一致する。

b) 96時間後の解剖 接種 96 時間後の材料では，未だ病徴は認められないが，菌糸の蔓延は加速度的に早まり，すでに裏面表皮にまで達しているものが認められる。菌糸の柵状組織内での状態は Fig. 3 の如くである。菌糸は細胞内だけでなく，細胞間隙にも認められる。しかし Gardner[3] は細胞内のものだけを記載している。

菌糸が細胞内に侵入した場合，寄主細胞の葉緑粒はまだ形態的に変化のないものでも極めて Eosin 嗜好性となり (Fig. 3, ch)，菌糸が侵入した細胞から 2〜3 の細胞を隔てた細胞に於ても認められる。しかし Fig. 3 に示した如く，菌糸の侵害を受けた細胞では，葉緑体はすでに崩壊をはじめ，Eosin に極めては濃染する。このような変性過程は恐らく菌糸から分泌される Protease によるものと考えられる。なお菌糸の侵害を受けた細胞では核は認め難く， chromatin のみが細胞中に散在している場合も認めている。従つてかかる核では核質崩壊 (Caryorhexy) を来たしたものと思われるが，その過程は明かにしていない。そして Gardner[3] の認めたような異常分裂を行つた核は発見していない。

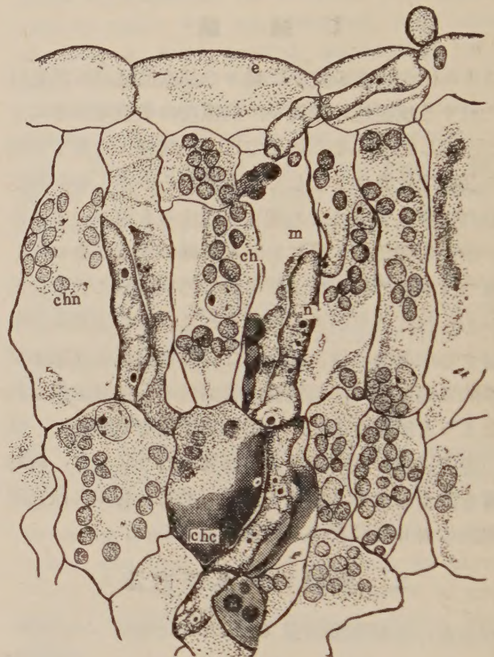


Fig. 3 Cross section through a spot of leaf of Suyo. (a cucumber variety), 96 hours after the inoculation. (X 850)
ch. chloroplasts stained deeply.
chc. chloroplasts collapsed and stained deeply.
chn. normal chloroplasts.
e. epidermal cell
m. intracellular hypha.
n. nucleus of hypha.

c) 120時間後の解剖 5日後には明かに病徴を現わしている。このような材料では葉の厚さは健全部の半ば程度に収縮して，原形質も溶解してほとんど認められない。しかしてこのような部分では，菌糸はむしろわずかしか認められないので，自己消化したものと考えられる。

2) 附傷接種

一般に病原菌が寄主体内に侵入する場合，クチクラ層が防壁となる場合も考えられ，その厚さが品種によつて異ることがある[2]。胡瓜の場合，供試品種の葉片を

SudanⅢ，または Safranin で染色すると明かにクチクラ層を認め得るが，その厚さは顕微鏡で測定するには困難を感ずる程度のものである。従つて品種による一定の傾向を見出すことは難しい。筆者はクチクラ層の厚さ，あるいは質による品種間抵抗性の差異を考慮するため，附傷接種実験を行つた。

四葉，台湾毛馬両品種の葉面半分に前記の如く傷をつけ，附傷直後，1日，2日及び4日後の材料に同時に接種した4区について，その病斑数を測定した(第1表)。但し1葉の健全，及び附傷部をそれぞれ対応した測定値として統計処理した結果，1％以下の危険率で有意差を認めたが，便宜上1個体を1区として，1個体当3～4葉の平均値を以て表示した。

上表の結果から見ると，四葉，台湾毛馬の両品種とも附傷区の病斑増加は極めて明瞭である。そして抵抗性の台湾毛馬における増加率は罹病性四葉より遙に高い。若し傷痍によつて品種間差異の原因の全部または一部が取除かれたとすれば，これ等の処理によつて台湾毛馬と四葉の罹病率は全く同一になるか，または非常に近くなる筈である。しかるにその差は依然として存在しており，附傷区と対照区の罹病率の差の平均は両品種共ほぼ近似した値となつて，台湾毛馬 1.14，四葉 1.56 である。このことは附傷によつて両品種にほとんど同じ数のあらたな侵入門戸を附加したにすぎないことを示すものであつて，抵抗性の原因を取除いたとは考えられない。あらたな侵入門戸は恐らく，附傷処理による表皮細胞の原形質にまで及ぶ傷によつて与えられたものと考えられる。そして上記の操作によつて抵抗性である台湾毛馬の発病数が急騰したことは抵抗性の原因が細胞原形質の性質よりも細胞膜あるいはクチクラ層にあることを示すもののようである。

4. 論 議

病原菌の侵入過程に伴う種々の変化を観察することは品種間の抵抗性差異を追究するためには極めて重要である。前報においては[1]品種間差異が侵入の段階において現われることを明かにしたので，引きつずき本実験においては解剖学的観察を行つた。その結果病原菌は24時間後には附着器を作り，48時間後にはすでに表皮細胞内に侵入する。そして附着器は細胞縫合部に形成されることが多い。附着器が縫合部に形成せられるという観察は稲熱病菌[4,6]，菜豆炭疽病菌[7]においても報告されている。附着器からの穿入糸は表皮細胞中葉をとかし，表皮細胞の側面纖維素膜を貫通して原形質に達するものが多いが，表皮細胞上面の細胞膜を貫通して細胞内に直接侵入するものは比較的少ないようである。Samuel[5]によれば *Clasterosporium* は上記とやや似た侵入法を取るもののようである。本病被害細胞では葉緑体その他の細胞内容物が順次崩壊して，遂に褐変するが，侵入法並びに寄主内での菌糸の蔓延速度には品種間に差異を認め難い。

このような結果から，侵入には (1) 侵入糸がクチクラ層を貫通する時，(2) 侵入糸が細胞間中葉を溶解通過する間，(3) 細胞膜を貫通する時の3つの段階にわけて抵抗性の原因を考えるのが便利のようである。

Table 1. Incidence of the anthracnose on wounded leaves of cucumber.

	Number of lesions per unit area ($\overline{cm}^2$) of leaf											
	4 days after wounding			2 days after wounding			1 day after wounding			Immediately after wounding		
Varieties	Sound leaf	Wounded leaf	Difference	Sound leaf	Wounded leaf	Difference	Sound leaf	Wounded leaf	Difference	Sound leaf	Wounded leaf	Difference
Suyo	1.26	2.96	1.70	1.10	3.50	2.40	2.98	4.45	1.47	2.30	4.00	1.70
	1.60	3.03	1.43	2.03	4.10	2.07	1.90	3.48	1.58	1.90	2.80	0.90
										3.95	4.95	1.00
Av.	1.43	3.00	1.57	1.57	3.80	2.24	2.44	3.97	1.53	2.72	3.92	1.20
Taiwan-Kema	0.20	1.17	0.97	0.13	1.40	1.27	0.28	1.33	1.05	0.13	1.35	1.22
	0.25	1.08	0.83	0.43	1.43	1.00	0.90	2.60	1.70	0.63	2.20	1.57
Av.	0.23	1.13	0.90	0.28	1.42	1.14	0.59	1.97	1.38	0.38	1.78	1.40

Ainsworth et al.[2] はトマトの果実表皮のクチクラの厚さを測定して，これが *Botrytis* に対する抵抗性の原因であることを述べている。筆者の実験では，クチクラ層の厚さの比較並びに附傷接種実験から，第1の段階にはその原因が存在しないものと考えるのが妥当のように思われる。なお侵入時の生理的な変化は今後の研究にまちたい。

5. 摘　要

1) 胡瓜炭疽病菌が寄主体内に侵入する過程を解剖によつて観察した。その結果，抵抗性，罹病性品種により，侵入法，体内蔓延の方法には差異がない。

2) 接種 24 時間後では附着器は多数形成せられているが，なお侵入していない。そして 48 時間後には細胞縫合部上の附着器から穿入糸を生じ，細胞間の中葉を溶して細胞内に侵入するものが多い。

3) 94 時間後には侵害を受けた細胞内の Chloroplast は Eosin で濃染し崩壊している。そして5日後には細胞は全く崩壊する。

4) クチクラ層の厚さには品種によつて特に差異がない。

5) 附傷接種によつて罹病率は高まつたが，このことから抵抗性の原因は明確にし得なかつた。(1957 年 2 月 13 日受理)

引 用 文 献

1) 赤井重恭・安盛博・寺沢迢：(講演要旨) 日植病報，20(2, 3)：111. (1955).
2) Ainthworth, G. C., E. Oyler and W. H. Read: Ann. Appl. Biol., 25 (2): 308～321. (1938).
3) Gardner, M. W.: U. S. Dept. Agr. Bull., No. 727: 1～68. (1918).
4) 伊藤誠哉・坂本正幸：農林省委託，稲熱病に関する研究，昭和 15 年度報告，1～30. (1940).
5) Samuel, G.: Ann. Bot., 41: 375～404. (1927).
6) 鈴木橘雄：農及園，15: 1998～2010. (1940).
7) 栃内吉彦・沢田啓司：日植病報，17 (2): 1～53. (1953).

Résumé

This paper deals with the result of the anatomical investigation on the infection of the anthracnose to cucumber leaves. The resistant and susceptible varieties, Taiwan-Kema and Suyo, were used. On leaves of both varieties. appressoria were formed equally in abundance within 24 hours after the inoculation. In the materials fixed and cut 48 hours after the inoculation, the penetration tube arising from an appressorium was commonly visible, and forced its way into the radial wall of the epidermal cells dissolving the middle lamella. The tip of the penetration tube usually swelled again after it had completed the penetration of the cellulosic wall into the epidermal cell.

The chloroplasts of the invaded host cells of both the varieties were collapsed and stained deeply with eosin, when leaves were fixed 94 hours after the inoculation. The macroscopic lesions were formed apparently on leaves 5 days after the inoculation and the invaded host cells collapsed entirely.

On both varieties, there was no difference in the thickness of cuticule of leaves and in the morphology of the epidermal cells. The susceptibility in both varieties increased in wounded leaves showing several times the spot number of sound leaves. However, the difference in the spot number between sound and wounded leaves, was equal on both the varieties used. This shows that the wounding gives only a similar number of path ways of the causal fungus to both varieties, and does not remove all the obstacles which resist the pathogenic invasion morphologically.

(Laboratory of Phytopathology, College of Agriculture, Kyoto University)

稲黄化萎縮病に関する研究*

第1報 卵胞子の発芽と感染

高津 覚・遠山 明**

Satoru TAKATSU and Aki TOYAMA; Studies on the downy mildew of rice plant.

Part I. On the oospore germination and the infection to rice seedlings by the oospore.

1. 緒 言

黄化萎縮病罹病水稲の茎葉組織内には，ほとんどすべての場合多数の卵胞子が形成されている[1,2,4]。一般に本病罹病株は生育の途中で枯死し，水田の中で腐敗したり，あるいは刈取後茎葉の一部が圃場附近に散乱したり，刈株が放置されることが多いから，茎葉内の卵胞子が水田に残る機会が多く，したがつてそれら卵胞子が如何なる経過を経て伝染に関与するかを確めることは極めて重要な問題である。田杉[4]は先に冬の間罹病茎葉を水中で腐敗させた場合には春期卵胞子の発芽がみられることを報告し，発芽におよぼす温度，pH，稲苗の有無等の影響や，卵胞子の生活力について調査を行つた。しかしその後，田杉の得た知見に対しての追試例がなく，卵胞子の発芽ならびにそれによる感染に関しても不明の点が少くないので，筆者らは罹病茎葉の越年状態と卵胞子の発芽能力との関係を調査するとともに，卵胞子の発芽に関与する2，3の要因について実験を行つた。本実験はなお検討を要する点が多いと思うが，一応その結果を報告する。

本稿を草するに当り，懇切な御指導を賜つた京都大学赤井重恭教授，西京大学桂琦一助教授，ならびに実験に御協力下さつた当場川瀬譲(但馬分場)，西村十郎両氏に衷心より謝意を表する。本研究の一部は昭和31年度日本植物病理学会関西部会で講演したものである。

2. 実験材料および方法

卵胞子の越年状態と卵胞子発芽との関係に関する実験に用いた罹病水稲は，1955年本場苗代で自然感染した全茎罹病株を本圃に移植し育成したものである。1955年10月18日無出穂の株を選んで罹病葉を採取し，直ちにガラス室内の2万分の1ポットに，第1表のごとく各種の状態に保存した。なおB，E両区は適宜灌水してほぼ一定の土壌湿度に保ち，C，F区は常に湛水状態とした。

第1表 各処理区における罹病茎葉の越年状態

区別	処理	茎葉の位置	土壌の乾湿
A	乾土上放置	表土上	乾燥
B	湿土上放置	〃	湿潤
C	水中浸漬	〃	湛水(約2cm)
D	乾土中埋没	表土下2cm	乾燥
E	湿土中埋没	〃	湿潤
F	湛水土中埋没	〃	湛水(約2cm)

卵胞子の発芽試験法は次の通りである。供試の罹病茎葉を水洗した後，これを指で充分破砕し，シャーレの蒸溜水中に懸濁して，5～10日間，18～22°C に保つた後，KOH 15% 液で処理し，透明にして卵胞子の発芽状況を調査した。

次に卵胞子の発芽に及ぼす各種の条件に関する試験は，上記の実験で水中浸漬して充分腐熟した組織内の卵胞子を用い，前記方法に準じ発芽試験を行つた。

3. 実験結果

(1) 罹病茎葉の越年の状態と卵胞子発芽との関係 1955年10月第1表のごとく処理した茎葉について，翌1956年1月30日以後ほぼ1カ月毎に供試材料を取り出し，組織内に形成されている卵胞子の発芽試験を行つた。発芽試験は1期間内に2～6回の実験を反復した。この結果を総合すると次の通りである。

第2表の結果によれば，冬期間罹病茎葉が水中にあつて腐敗すれば卵胞子は比較的良く発芽するようである。茎葉が土壌表面に放置された場合には卵胞子は発芽しないが，土壌中に埋没した場合には，土の乾湿，湛水の有無にかかわらず，僅かながら発芽可能の傾向

---

* 兵庫県農試病理研究室業績 第16号

**兵庫県農業試験場

第 2 表　罹病茎葉の処理方法（越冬環境）と卵胞子発芽との関係

発芽試験月日	1月30日〜2月16日				2月28日〜3月15日				3月21日〜4月7日				5月1日〜5月12日			
処理＼調査項目	調査卵胞子数	卵胞子発芽率%	游走子嚢形成率	同左発芽率	調査卵胞子数	卵胞子発芽率%	游走子嚢形成率	同左発芽率	調査卵胞子数	卵胞子発芽率%	游走子嚢形成率	同左発芽率	調査卵胞子数	卵胞子発芽率%	游走子嚢形成率	同左発芽率
A乾土上放置区	2200	0	—	—	4338	0	—	—	2097	0	—	—	1561	0	—	—
B**湿土上放置区	658	0	—	—	2145	0	—	—	1110	0	—	—	692	0	—	—
C水中浸漬区	4947	4.08	172/202	71/172	4825	4.06	183/196	19/183	2887	3.43	95/99	29/95	2151	0.14	2/3	1/2
D乾土中埋没区	5077	0,30	15/15	1/15	3218	0.16	5/5	0/5	2652	0.08	2/2	0/2	1304	0.23	3/3	0/3
E湿土中埋没区	4222	0.12	4/5	0/4	4630	0.37	17/17	5/17	1792	0.45	8/8	0/8	*205	0	—	—
F湛水土中埋没区	4250	0.12	5/5	0/5	5425	0.81	42/44	11/42	2101	0.05	1/1	0/1	* —	—	—	—

*　材料採取困難　** 土壌表面で腐敗した材料のみを供試した。

検定結果　卵胞子発芽率**C区（水中浸漬）＞A, B, C, D, E, F 区

が認められる。而して卵胞子は，本実験のような条件下では，すでに1月末には発芽能力を得て，以後発芽能力を持続するものと思われる。

またこれらの発芽管の先端には，田杉[4]も記しているごとく，ほとんどすべての場合游走子嚢が形成される。

（2）　春季および夏季における罹病茎葉の水中保存と卵胞子発芽との関係　乾燥状態（室内保存）で越年した罹病葉を春季に水中浸漬した場合と水稲の生育期間に水田中で罹病葉が枯死した場合に卵胞子が発芽するか否かを知るため，次の実験を行つた。すなわち，春季は1955年10月採集の供試材料を1956年3月1日および5月1日から，および夏季は1956年度に接種した材料を8月31日から水中に保存しものについて，それぞれ卵胞子の発芽試験を行つた。結果は第3表のごとくである。

この結果によると，冬期以外の時期でも，罹病葉が

第3表　秋季および春季における罹病葉の水中保存と卵胞子発芽との関係

罹病葉浸漬月日	浸漬日数	発芽試験月日	調査卵胞子数	発芽率%	游走子嚢形成率	同左発芽率
3月1日	33	4月2日〜7日	1562	0	—	—
	54	4月23日〜5月1日	1264	0.47	5/6	2/5
	75	5月14日〜21日	6706	0.49	32/33	24/32
	98	6月6日〜16日	4585	0.87	40/40	13/40
5月1日	45	6月14日〜25日	2426	0	—	—
	60	6月29日〜7月3日	3092	2.26	63/70	15/63
8月13日	67	11月5日〜12日	1510	0	—	—
	88	11月26日〜29日	3598	0.86	31/31	5/31
	92	12月1日〜4日	1592	3.38	47/54	10/47

水中に約2カ月前後あつて腐敗した場合には，卵胞子は充分発芽しうる状態に達するものと思われる。

（3）　腐敗葉内の卵胞子の発芽に要する時間　水中に保存して充分発芽可能の状態となつた卵胞子が，好適な条件下で発芽を開始する迄の時間を知るため，第1表C区の材料を用い，葉の組織を破砕後前述のごとく蒸溜水に懸濁し，24時間毎に卵胞子を少量宛採取して発芽状況を調査した。なお換水区および無換水区の2区を設けたが，前者は発芽試験開始後48時間および96時間目に新しい蒸溜水と交換した。

結果は第4表のごとくで，換水の有無にかかわらず発芽可能となつた卵胞子は下表の条件下で 48 時間以内に発芽を完了するものと思われる。

第4表　卵胞子の発芽に要する時間

区	調査項目＼時間 (hrs)	24	48	72	120	168
無換水区	調査卵胞子数	879	864	912	521	800
	卵胞子発芽率%	0.49	1.83	1.34	1.35	1.50
	游走子嚢形成率	4/4	10/18	9/13	6/7	11/12
	游走子嚢発芽率	1/4	0/10	1/9	1/6	3/11
換水区	調査卵胞子数	760	909	928	684	919
	卵胞子発芽率%	0.13	1.77	1.41	1.31	1.66
	游走子嚢形成率	1/1	16/16	12/13	7/9	14/15
	游走子嚢発芽率	0/1	0/16	1/12	1/7	2/14

（備考）　水温21.5〜23.0°C　7月10日〜17日2回実験
総合結果　検定結果　卵胞子発芽率* 24時間後＜48時間以後

（4）　卵胞子の存する組織の破砕の有無と発芽との関係　秋期採集して水中に保存した罹病茎葉では，翌年3月頃迄は葉肉組織が全体に軟化してくるが，崩壊消失する迄にはいたらない。このような組織を破砕して卵胞子を水中に露出せしめることが卵胞子の発芽を容易にするか否かを知るため腐敗葉の中肋を中心として左右に分割し，一方を指で充分破砕し

他方は破砕せずそのまま同時に発芽試験を行つた。4回の実験中3回は発芽率が低かつた。この理由についてはまだ明らかにしていないが，結果は次表のようである。

第5表　組織の破砕処理と卵胞子発芽との関係

実験月日 回数	処理	調査卵胞子数	卵胞子発芽率%	游走子嚢形成率	同左発芽率
Ⅱ/28～Ⅲ/30 (3回)	破砕	2652	0.83	20/23	4/20
	無処理	4268	0.09	2/4	0/2
Ⅲ/6～Ⅲ/13 (1回)	破砕	1077	5.01	53/54	10/53
	無処理	2871	5.57	141/160	18/141

(備考)　水温18.5～19.5°C,

第5表によると，発芽率が低いときは破砕区の発芽がやや良好のように思われるが，発芽率が高いときには破砕の影響は認められない。したがつて本実験のごとく，充分腐敗軟化せしめた組織内では，特に破砕することなく卵胞子は充分発芽するものと思われる。

(5)　水質と卵胞子発芽との関係　卵胞子発芽に関し，土壌浸出液が如何なる影響を及ぼすかを知るため実験を行つた。

第6表　水の種類と卵胞子発芽との関係

殺菌の有無	水の種類	調査卵胞子数	卵胞子発芽率%	游走子嚢形成率	同左発芽率
殺菌	蒸溜水	1959	1.68	28/34	11/28
	土壌浸出液	1711	0.75	8/14	0/8
	水道水(井水)	1621	0.27	0/4	—
無処理	蒸溜水	2956	1.79	38/56	10/38
	土壌浸出液	1845	0.64	9/11	1/9
	水道水(井水)	1839	0.27	0/4	—

(備考)　水温17.5～18.5°C，2月2日～16日，2回実験総合結果
検定結果　蒸溜水＞水道水(5～10%point)

その結果によると蒸溜水中における発芽が最もよく土壌浸出液の発芽促進効果は認められない。またここで用いた水道水は卵胞子の発芽を害し，発芽管の先端に游走子嚢を全く形成しない。しかして水の殺菌の有無は，発芽に全く影響を及ぼさないようである。

(6)　卵胞子発芽に及ぼすペプトンおよび蔗糖の影響　蒸溜水中に栄養物質を溶解した場合，発芽に如何なる影響を及ぼすかを調査したが，第7表のごとき結果を得た。

すなわちペプトンは微量でも発芽を抑制するが，蔗糖はむしろ促進する傾向にある。但し，ペプトンを添加すると，細菌の繁殖が著しいのでペプトン自体の影響かどうかは明瞭でない。

しかして発芽後の游走子嚢形成は蔗糖添加によつて

第7表　卵胞子発芽に及ぼすペプトン及び蔗糖の影響

区	調査卵胞子数	卵胞子発芽率%	游走子嚢形成率	同左発芽率
蒸溜水	4585	0.94	40/41	13/40
Sucrose 2.0%	3729	1.95	20/64	5/20
Peptone 5×10^{-3}%	4558	0.09	3/4	1/3
〃 $5\ 10^{-2}$%	4582	0.04	2/2	0/2

(備考)　水温19.0～20.5°C，6月6日～16日，4回実験総合結果　検定結果　卵胞子発芽率*　蒸溜水，Sucrose 2.0%＞Peptone $5\times10^{-3}, 5\times10^{-2}$%　游走子嚢形成率**　蒸溜水＞Sucrose 2.0%

顕著に少くなる。以上のごとく，卵胞子の発芽および游走子嚢形成は，水中に溶解している物質によつてかなり敏感に影響されるようである。

(7)　卵胞子発芽に及ぼす温度の影響　10～29°C の各段階に調節した恒温器を用いて，蒸溜水中における発芽最適温度を調べた。

結果は第8表の通りである。

第8表　卵胞子発芽と温度との関係

温度	調査卵胞子数	卵胞子発芽率%	游走子嚢形成率	同左発芽率
10～12 (°C)	3105	0.20	6/6	1/6
14～16	3152	0.57	17/18	1/17
18～20	3050	1.44	41/45	7/41
22～24	3012	0.34	7/10	0/7
27～29	3304	0	—	—

(備考)　12月5日～14日，2回実験総合結果

第8表によれば発芽適温は 18～20°C，最低限界は 10～12°C よりも僅かに低い処に，最高限界は 25～26°C 付近にあると思われる。この結果は田杉[4] の結果とよく一致する。また，概して高温時には発芽管が比較的良く伸長した後に游走子嚢をつくるが，低温では発芽直後に游走子嚢を形成し易い傾向が認められた。

(8)　卵胞子による接種試験　1955 年度に採取した罹病茎葉を冬期間乾燥状態に保存し，3月1日から水中に浸漬して卵胞子を発芽可能の状態とした。(第3表参照)

この材料を供試して催芽直後の種籾に6月9～12日に接種した。発病調査は約20日後に行つたが，結果は第9表の通りである。

本実験は1回行つたのみであるので，この結果から結論を導くことは難しいが，卵胞子によつてもかなり高い感染率を得る場合があることは首肯される，田杉[4] は卵胞子による接種試験を反復した結果，多くの場合高い感染率を得ている。

筆者らはまだ自然状態における卵胞子の行動を明ら

第9表 卵胞子による接種試験結果

調査事項 / 区	接種状況			卵胞子の発芽状況			
	供試苗数	発病苗数	発病率 %	調査卵胞子数	卵胞子発芽率 %	游走子囊形成率	同左発芽率
1	32	15	47	1589	1.95	25/31	13/25
2	24	1	4	1503	2.59	38/39	2/38

(備考) 水温20.0°C，地下室(暗黒下)にて接種

3. 総合考察

かにしていないが，現在までに得た実験結果から，卵胞子の伝染源としての意義を推察すると次のようである。

水稲の罹病葉内に形成された卵胞子は，第2～3表において明らかにしたように，冬季（越冬期間）湛水状態で経過した場合，あるいは春季および稲生育期の夏季においても罹病茎葉が水中に浸漬せられて，組織が腐敗した場合にはいずれも発芽可能の状態となるようである。

桂[3]は苗代における本病の第一次伝染源として，越年性または多年性の禾本科雑草が重要な役割を果していることを指摘したが，これら雑草の秋の萠芽時に，罹病稲茎葉中の卵胞子が発芽して雑草に対する伝染源となる可能性が少くないものと思われる。一方田杉[4]が報じたように，苗代における稲幼芽に対する感染源としての役割も決して軽視できないものと考えられる。ただ筆者らの実験範囲内では，卵胞子の発芽は環境条件の影響を受けやすく，発芽率，感染程度はつねに不同であるとともに，発芽率は比較的低い傾向が認められる。しかして土壌浸出液による発芽促進が認められないから，自然状態において卵胞子のみによる大量感染の機会は比較的少いのではないかと思われる。これらの事項についてはなお究明を要する点も多いので筆者らは今後の実験とともに自然状態における観察を併行して伝染源としての卵胞子の生態を明らかにしたいと思う。

4. 摘要

1) 本報告は，水稲黄化萎縮病菌の卵胞子発芽ならびにそれによる水稲の感染に関して行つた2,3の実験結果について述べたものである。

2) 水稲罹病葉内の卵胞子は，秋期からポット中の土壌上で湛水状態で越年した場合には，1月末にすでに発芽可能の状態となり，以後5月迄0.14～4.08%の発芽率を示す。しかして罹病葉を土壌表面に乾燥状態に放置した場合には全く発芽を認めず，土壌表面下2cmに埋没した場合には土の乾湿または湛水の有無にかかわらず僅かに発芽し得た。

3) 罹病葉を春期3月および5月に，および夏期の8月末に，ポット中の湛水土壌上においた場合，ともに2ヵ月前後で卵胞子は発芽した。しかして稲組織が腐敗することによつて卵胞子は発芽可能となるもののごとく，その後適当な条件下におかれると，48時間以内で発芽する。

4) 発芽能力の旺盛な場合には，腐敗罹病葉を破砕することなく，組織内にある卵胞子は充分発芽し得るようである。

5) 卵胞子の発芽 medium として，土壌浸出液は蒸溜水より劣る傾向にあり，水道水は発芽に適当でない。しかして peptone を 5×10^{-2}～10^{-3}% 加えた蒸溜水中では，発芽がかえつて阻害せられ，蔗糖2%液は発芽を保進する。なお発芽後の游走子囊形成は逆に阻害せられる。

6) 発芽適温は18～20°C であつて，最高温度は25～26°C，最低は10～12°C よりやや低いようである。

7) 卵胞子を用いて稲幼芽に接種試験を行つた結果かなり高い発病を示す場合が認められた。

8) 卵胞子は苗代期の稲幼芽に対して，さらに秋季雑草の発芽時において，かなり重要な伝染源となるものと思われるが，今後自然状態における観察と実験を併行してその生態を明らかにする予定である。

(1957年4月5日受理)

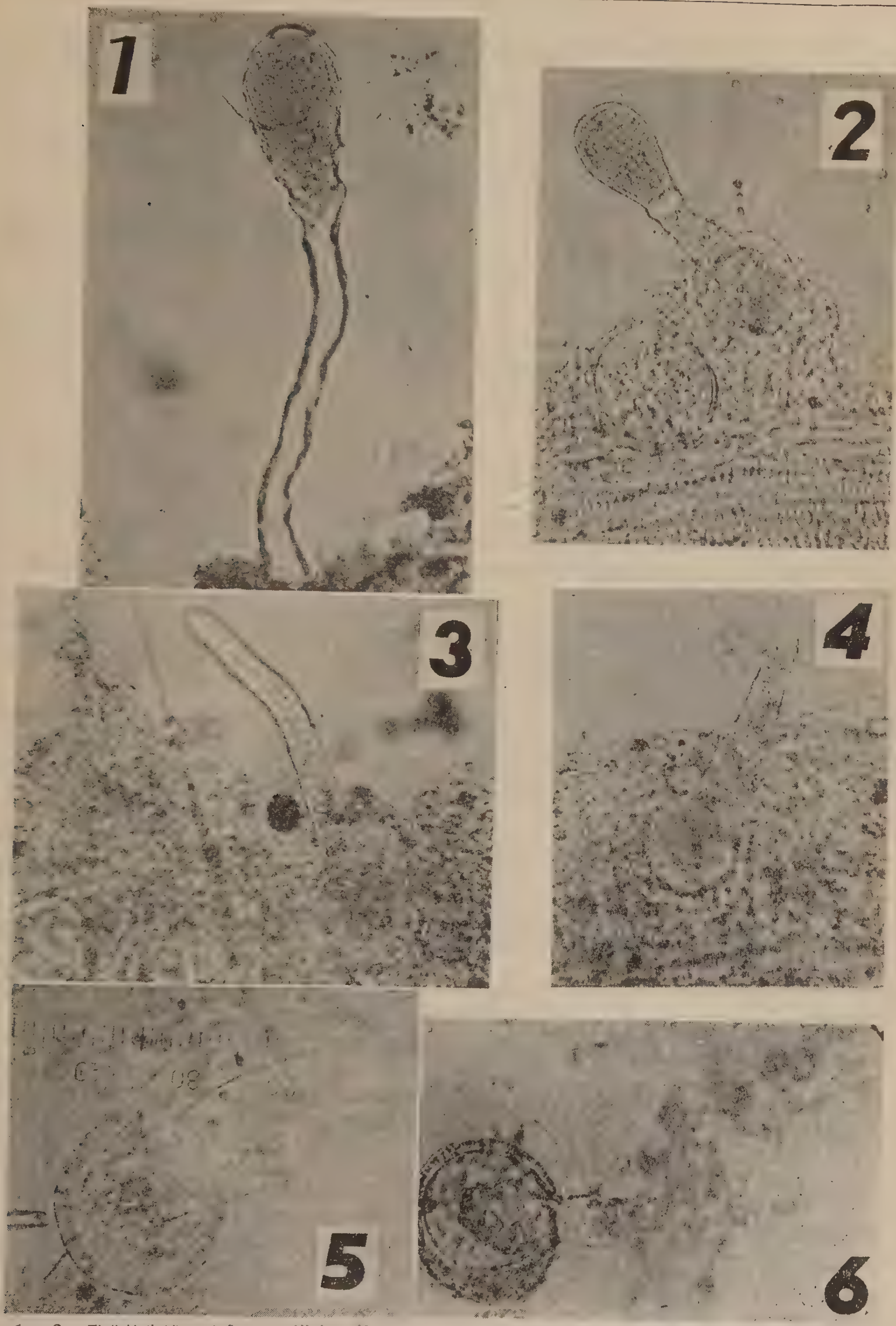
引用文献

1) 近藤 章: 滋賀農大学報, 1: 9～13. (1952).
2) 桂 琦一: 西京大学報, 4: 66～79. (1953).
3) 桂 琦一・土倉亮一・古家民生: 西京大学報, 6: 49～66. (1954).
4) 田杉平司: 農技研報, C2: 1～48. (1953)

Summary

1. In the present paper the writers deal with the results of a study on the oospore germination of *Sclerophthora macrospora* (Sacc.) Thirum., Shaw et Naras., the causal fungus of downy mildew of rice plant, and inoculation tests by oospores.

2. When the infected leaves were kept on soil flooded with water in autumn, the oospores became germinable at the end of January, and remained viable at least until May. The percentage of germination ranged from 4.08 to 0.14 during January to May. However, oospores of the infected leaves left on dry soil showed no germination. If the infected leaves



1，2…発芽管先端に形成された游走子嚢　3，4，5…発芽管を抽出した卵胞子　6…発芽管先端に細長い游走子嚢（中に游走子が認められる）を強成した卵胞子

were burried 2cm deep in the soil, slight germination of oosporores was obtained irrespective of the water condition in soil.

3. Germinability of the oospores was noticed after about 2 months when the infected leaves were kept on soil with flooded water in early March, May, and at the end of August, respectively. The mature oospores in the rotted leaves can germinate within 48 hours in distilled water.

4. Crushing of rotted leaves is not a necessary measure for the germination of the oospores with high germinability.

5. Distilled water may be a favorable medium for oospore germination. Soil extract did not promote germination. Tap water used seems to check the germination. Addition of $5\times10^{-2}\sim10^{-3}$ percent peptone in distilled water inhibited the germination. 2% sucrose solution rather accelerated the germination, but it retarded slightly the formation of zoosporangia at the tip of germ tubes.

6. The optimum temperature for the oospore germination seemed to lie between 18～20°C, the highest 25～26°C, and the minimum somewhat lower than 10～12°C.

7. In inoculation experiments to rice seedlings using oospores, a consideraby high percentage of the disease incidence may sometimes be obtained.

8. Owing to the present results, the writers consider the oospores to be fairly important infection source to wild grasses in autumn and to the rice seedlings in the nursery stage.

(Hyōgo Agr. Exp. St.)

文 献 紹 介

担子菌類の数種代謝産物

Anchel, M. Some metabolic products of Basidiomycetes. Essays in Biochemistry. John Wileys & Sons, Inc. New York (1955) pp. 1-12.

放射状菌, Penicillia, Asprergilli の代謝産物はよく研究されているが高等な菌類, 例えば担子菌などのそれはあまり研究されていない。著者と共同者は 1947 年頃から担子菌類の産生する抗生物質を研究し既に十数回の報告を出しているが, これは今まで報告したものを要約したものである。これを大別するとキノン系, フェノール系, 1 半テルペン系, ポリアセチレン系に大別されるが最後の群が最も多数にのぼるのは興味深い。

(Ouinones)

Fomecin A (*Fomes juni perinus*) C_8H_{807}

Bomecin B (〃) C_8H_{809}

5-Methoxy-p-taluquinone (*Coprinus similis, Leintnus degener*) これは既知の Fumigatin, Spinulosin と近縁である。

2,5-Dimethoxyquinone(*Polyporus fumosus*)

(Phenol)

p-Methoxy-tetrachlorophenol (*Drosophila subatracta*)

(Sesquiterpenes)

Illudin M (*Cliptocybe illudens*) $C_{15}H_{2004}$

Illudin S (〃) $C_{15}H_{20}O_4$

両者はサントニン $C_{15}H_{1803}$, ブソイドサントニン $C_{15}H_{20}O_4$, と化学性がよく似ているラクトン環をもつ。

(Polyacetylenes)

Nemotin (*Poria tenuis, P. corticola*)
HC··C—C· C—C—C—C C— C—C· C—O

Nemotin A (〃) HC≡C—C≡C—C
··C—C—C· ·C C—COH

Drosophilin C (*Drosophila subatracta*)

Drosophilin D (〃)

Agrocybin (*Agrocybe dura*) $HOH_2C—C≡C—C≡C—C≡C—CONH_2$

Biformyne 1 (〃) $HC≡C—C≡C—C≡C—CH_2CHOHCH_2OH$

Diatretyne amide (*Cliptocybe diatrea*) $HOOC—C=C—C≡C—C≡C—CONH_2$

Diatretyne nitrile (〃) HOOC—C=C—C≡C—C≡C—C≡N

前 3 群は従来知られた抗生物質の類別の中に包含される。ポリアセチレン系の多いことは担子菌の産出する物質の特長として注意を要する。(鈴木直治)

インゲンのサビ病菌夏胞子の発芽に対して同時に起る自己刺戟と自己抑制

Yarwood, C. E.: Simultaneous self-stimulation and self-inhibition of urediospore germination. Mycologia, 48 (1): 20-24. (1956).

Uromyces phaseoli の夏胞子を粗寒天上で暗黒下, 25°C に保つてその発芽率及発芽管長を測定した。この場合 2 個以上の胞子の集団は除いて単独の胞子のみを測定した。その結果夏胞子の数の増加に伴つて発芽率は減少するが, 発芽管長は増加した。この胞子の発芽に対する自己刺戟と自己抑制は 13°C に於けるよりも 25°C に於て, 又, 酸を加えないものよりも加えたものに於て夫々その作用は増大した。胞子量が密にある場合 cumarin, $KMnO_4$ 及 Tween 60 を加えると, 胞子の発芽率は非常に増大した。寒天にパラフイン油を 1 %加えると, インゲン及ヒマワリのサビ病菌の胞子発芽率を増加せしめたが, 胞子を播いた寒天面を逆さにして, そのふたにパラフイン油を 10cc 入れて試験したが, 発芽率は夫程増大しなかつた。以上の結果はインゲンサビ病菌の夏胞子は発芽してから数時間の間に 2 つの代謝産物を産生することを示していると思われる。

(山中達)

馬鈴薯疫病抵抗性の細胞生理学的研究

Ⅶ 抵抗性および罹病性を示す馬鈴薯葉柄生細胞内に於ける疫病菌菌糸伸長の比較

富　山　宏　平*

Kohei TOMIYAMA: Cell physiological studies on resistance of potato plants to *Phytophthora infestans.*

VII. Growth of intracellular hyphae of *Phytophthora infestans* in the living potato plant cells which are resistant or susceptible to the infection of them.

前報告[3]で筆者は，疫病菌の侵入を受けた抵抗性馬鈴薯品種の細胞が過敏感死を示す時期に，大部分の侵入菌糸は生きており，かつ伸長能力をもつていることを示した。そこで疑問となることは，寄主細胞の過敏感死以前に抵抗性の細胞内の菌糸の伸長が何らかの阻害を受けていないかと云うことであろう。ここに述べる実験はこの点を明かにしようとする目的でなされた。

I. 実験法

前報告[3]における供試部位は稚葉の中肋表皮細胞であつた。この細胞は菌侵入後の過敏感反応がきわめて速やかで[4]，過敏感死以前の菌糸伸長の測定は困難である。そこで今回は葉柄を剃刃で縦断し，その切断面の破壊細胞の内容を除くために流水洗し，その皮層組織に疫病菌の遊走子浮遊液を接種した。接種後検鏡すると，この切断面の細胞は生きていて（生体染色，原形質流動により確認），遊走子は大部分，この生細胞壁に附着器をつくつて侵入し，稀にある空細胞（破壊細胞）壁に附着器をつくつて侵入したものとは形態を全く異にしているから，生細胞内の菌糸を測定できる。

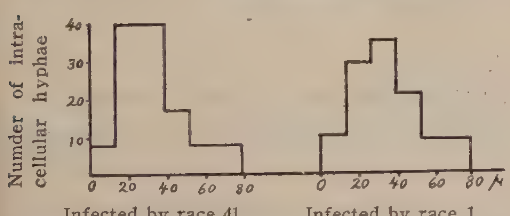


Fig.1. Distribution of the length of intracellular hyphae in the cells of Hokkai No. 10, 6 hrs. after inoculation

この組織では被侵害細胞の死はほぼ 10～15 時間後[5]に起るから充分に過敏感死前の生細胞内菌糸伸長を測定する時間がある。これを 19°C の定温器に入れて処定時間後とり出して剃刃で検鏡用切片をつくり直ちに Bouin 固定液（第2, 3表の実験）あるいは Formalin-acetic-alcohol(6.5: 2.5: 100)固定液(第4表の実験）で固定した。Bouin 固定液の場合は 70 %エチルアルコールで洗滌したのち検鏡し，Formalin-acetic-alcohol の場合はそのまま検鏡した。接種後6時間程度では菌糸は分岐著しく少なく，且つ比較的屈曲少なく，伸長するので接種後および，4 6時間目に固定した。疫病菌の細胞内侵入はこれらの材料ではほぼ 2～2.5時間で完了する[5]。

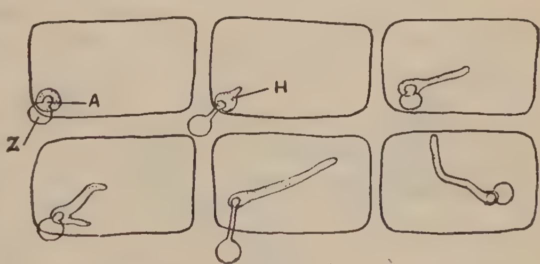


Fig. 2. Intracellular hyphae of *Phytophthora infestans.*
A : appressorium
H : intracellular hyphae
Z : zoospore

この場合菌糸の進入角度，屈曲が測定上の誤差の原因となることは云う迄もないが，しかし条件は抵抗性，罹病性で同じなので，誤差も同じと見做される。したがつて充分比較に耐えると考えられる。測定はミクロメーターにより階級に分けて測定したのち平均した。観察細胞数は各反覆でおのおの 100～130 で時にそれより少ない場合もあつた。菌糸の状態の一例を Fig. 2.

* 北海道農業試験場

Table 1. Reactions of the potato varieties used in the present experiments to races of *P.infestans.*

Varieties		Irish Cobbler	Hokkai No. 10	48005–46, Hokkai No. 17	41089–8
Genotypes *		r	R_1	R_4	R_1R_4
Reactions to the race *	Race 0	S	R	R	R
	Race 1	S	S	R	R
	Race 4	S	R	S	R
	Race 1,4	S	S	S	S

Remark: * According to the international nomenclature proposed by Black et al. (Takase [2]), Takakuwa and Takase [8])

に示した。

供試馬鈴薯品種としては抵抗性因子 R_1 および R_4 を各単独に，または併せもつたもの（高瀬[2]）を用い，それらに対して病原性をもつ疫病菌系統および病原性をもたぬ系統を接種した。これら供試材料の性質を第1表に示した。

実験は 1955～'56 の間に3回行つた。各実験でそれぞれ2～3回の接種試験をくり返えした。

2 実 験 結 果

細胞内における菌糸の伸長程度を観測すると，侵入直後のものから，相当に伸長したものまで種々の長さのものが混在している。この長さの分布の一例を図示すると Fig. 1 のようになる。全体の測定を通覧するにこの分布の形は抵抗性を示す場合と罹病性を示す場合とで差を見なかつた。したがつてこれらの測定値から平均値を計算することによつて，抵抗性と罹病性の場合における生細胞内の菌糸伸長を比較することができるであろう。

生細胞内の菌糸伸長の測定結果を Table 2～4 に示した。これらの諸表から，各系統の疫病菌の生細胞内の伸長速度は品種間では統計的に意義のある差を見ず特に抵抗性との間には全く相関を認めない。ここで興味があるのは疫病菌の系統によつて生細胞内の菌糸伸長が異なる点である。すなわち Table 3 では race4 の伸長が悪く， Table 4では race 1, 4 の伸長が悪い

Table 2. The length of intracellular hyphae of *Phytophthora infestans* in the cells of cortex layer of petioles of potato variety Hokkai No. 10.

Hrs. after inoculation	4		6		The difference between 4 and 6 (Growth rate for 2 hrs.)	
Races of *P.infestans*	Race 0	Race 1	Race 0	Race 1	Race 0	Race 1
Reactions of host plant	R	S	R	S	R	S
I (Means)	17.5 μ	21.6 μ	30.6 μ	27.5 μ	13.1 μ	5.9 μ
II (〃)	21.3	20.5	32.7	35.6	11.4	15.1
Means	19.4	21.1	31.7	31.6	12.3	10.5

これらの場合にそれぞれの系統は分離後日が浅く，馬鈴薯生塊茎上での菌糸発育は不良であつた。これらの菌系統の発育が罹病性細胞の中でも抵抗性細胞の中でと同様に著しく悪いと云うことは，菌の生細胞内の発育速度とR因子による抵抗性とが一応無関係であることを示しているように思われる。

3 論 議

以上述べた実験結果から，R_1，及び R_4 因子に基く疫病抵抗性では，侵入後少なくも約4時間以内には，侵入菌糸の伸長阻害は認められない。これらの材料では，寄主細胞の過敏感死はおおむね 10～15 時間[5]であるから，寄主細胞の過敏感死の直前に菌糸伸長の阻害があるかどうかについては，この実験結果からは云うことができない。しかし過敏感死が始まる時期の観察によれば，細胞内の菌糸の蔓延状況については特別に抵抗性及び罹病性間に差があるようには見えない。

現在迄のところもつとも抵抗性と密接な関係があると思われる細胞学的な現象は寄主細胞の過敏感死に要する時間である[4,5,6]。

Table 3. The length of intracellular hyphae of *Phytophthora infestans* in the cells of cortex layer of petioles of potato varieties Hokkai No. 10 and 48005—46.

Potato varieties		Hokkai No. 10		48005-46	
Races of *P. infestans*		Race 4	Race 1	Race 4	Race 1
Reactions of host plant		R	S	S'	R
Hrs. after inoculation					
4	I (Means)	16.85 μ	13.35 μ	17.00 μ	16.18 μ
	II (〃)	15.25	10.83	13.82	15.39
	III (〃)	(27.52)*	14.74	17.66	16.19
	Means	16.05	12.97	16.16	15.92
6	I (Means)	31.87	42.70	32.17	42.36
	II (〃)	30.58	39.38	28.43	38.65
	III (〃)	30.21	38.98	34.41	35.97
	Means	30.88	40.35	31.67	38.99
Difference between 4 and 6 (Growth rates for 2 hrs)		14.83	27.38	15.51	23.07

Remarks: 1) * This figure was omitted from calculation of mean, because of the small number of observed cells.
2) Statistical significance of the difference between mean values of growth rate for two hours is : —

Between varieties : insignificant $\{F_0=2.14, F\frac{1}{6}(0.05)=5.99\}$

Between races : highly significant $\{F_0=82.1, F\frac{1}{6}(0.01)=13.74\}$

Interaction between varieties and races : insignificant $\{F_0=5.55, F\frac{1}{6}(0.05)=5.99\}$

すなわち抵抗性を示す場合には菌侵入に伴う過敏感死が速やかで，罹病性を示す場合には遅い。前報告[3]で，"寄主細胞の死直後（褐変初期）に侵入菌糸は生きていて，かつ伸長能力を持つている"ことを証明したが，本実験の結果は寄主細胞が生きている場合には菌糸の伸長の阻害すらも殆ど起つていないことを示している。

寄主細胞の過敏感死以後に急激な菌糸伸長の阻害が認められるが，これらの現象については別に報告した[8,6,7]。

4 摘　　要

1. 馬鈴薯葉柄を縦断し，その切断面生細胞に病原性を異にした疫病菌の各系統を接種し4及び6時間後に固定し，皮層細胞内の菌糸伸長を測定した。

2. その結果 R_1 および R_4 因子による抵抗性においては寄主細胞の過敏感死以前の時期には，少くも侵入後約4時間以内では侵入菌糸伸長阻害は認められないことが明らかになつた。

(1956年11月30日受理)

引 用 文 献

1) 高桑亮・富山宏平： 北海道農試彙報，73：94～99.(1957)；日植病報，21：37.(1956).
2) 高瀬昇：育種学雑誌，6（別刷）：12.(1956).
3) 富山宏平：日植病報，19：149～154.(1955).
4) ————：同上，20：165～169.(1956).
5) ————：日植病学会北海道部会31年度講演(1956).
6) ————：農業技術，11：63～67.(1956).
7) ————・高瀬昇・酒井隆太郎・高桑亮・竹森俊彦：日植病報，21：109.(1956).
8) 高桑亮・高瀬昇：北農研究抄報，3号.

Table 4. The length of intracellular hyphae of *P. infestans* in cells of cortex layer of petioles of potato varieties, Irish Cobbler, Hokkai No. 10, Hokkai No. 17 and 41089–8.

Races of *P. infestans* inoculated	Hrs. after inoc.		Potato varieties: Irish Cobbler	Hokkai No. 10	Hokkai No. 17	41089–8
Race 1	4	I (Means)	(S) 23.25 μ	(S) 22.79 μ	(R) 21.86 μ	(R) 23.40 μ
		II (〃)	22.71	20.91	22.72	25.55
		III (〃)	17.48	–	16.47	16.26
		Means	21.15	21.85	20.35	21.74
	6	I (Means)	40.07	38.49	36.38	38.97
		II (〃)	31.69	31.86	34.11	36.22
		III (〃)	28.33	33.13	36.37	–
		Means	33.36	34.49	35.62	37.59
	Difference between 4 and 6		12.21	12.64	15.27	15.85
Race 4	4	I (〃)	(S) 17.89	(R) 25.19	(S) 16.32	(R) 21.18
		II (〃)	–	19.75	–	18.21
		III (〃)	20.16	22.69	20.21	21.03
		Means	19.03	22.54	18.26	20.14
	6	I (Means)	39.39	42.25	34.85	36.99
		II (〃)	31.58	37.76	29.80	32.77
		III (〃)	26.10	31.67	31.96	34.19
		Means	32.35	37.23	32.20	34.65
	Difference between 4 and 6		13.32	14.69	13.94	14.51
Race 1, 4	4	I (Means)	(S) 16.76	(S) 20.36	(S) 14.32	(S) 23.36
		II (〃)	17.48	–	14.24	18.30
		III (〃)	15.32	15.72	13.00	19.44
		Means	16.52	18.04	13.85	20.36
	6	I (Means)	27.51	23.62	25.78	30.70
		II (〃)	21.35	20.08	19.96	24.01
		III (〃)	21.24	26.54	26.27	21.56
		Means	23.37	23.41	24.00	25.42
	Difference between 4 and 6		6.85	5.37	10.15	5.06

Remark: Statistical significance of the difference between the length of intracellular hyphae 6 hrs. after inoculation is:

Between varieties: insignificant $\{F_0=1.497,\ F^{3}_{22}\ (0.05)=3.05\}$

Between races : significant $\{F_0=57.19,\ F^{2}_{22}\ (0.01)=5.72\}$

Interaction between varieties and races, insignificant $\{F_0=0.89,\ F^{6}_{22}\ (0.05)=2.55\}$

Résumé

In the previous paper[3)], it was shown by means of vital staining that the majority of the intracellular hyphae of *Phytophthora infestans* in cells of a resistant potato variety were still living at an early stage of necrosis of host cell.

The present experiments have been carried out, in order to ascertain, furthermore, whether the growth of intracellular hyphae is inhibited or not, before the hyper-sensitive death of host cell.

A petiole of potato leaf was cut longitudinally with a razor, and washed with streaming water in order to eliminate the contents of destroyed cells. The cut surface of the petioles, almost all the cells of which were living, was inoculated with *P. infestans*. Four and 6 hours after inoculation, microscopical sections of the inoculated materials were prepared and fixed with Bouin or Formalin-acetic-alcohol, and

then the length of intracellular hyphae was measured with a micrometer. As the hyper-sensitive death of the host cells, caused by infection with the incompatible race of *P. infestans*, occurs about 10-15 hours after inoculation, the values thus obtained may indicate the growth rate of the fungus in living cells. In the materials used in the present experiments, penetration took place about 2-2.5 hours after inoculation.

The varieties tested were Irish Cobbler (r), Hokdai No. 10 (R_1), Hokkai No. 17 (R_4), 48005-46 (R_4) and 41089-8 (R_1R_4). These varieties were inoculated with compatible or incompatible races of *P. infestans*: race 0, race 1, race 4 and race 1, 4.

The results obtained are as follows. The differences in the growth rate of the hyphae in the living cells is statistically highly significant between races, but not between varieties. The interaction between varieties and races is not statistically significant.

From these results, it may be concluded that, even when the host plant cells show resistance to infection by *P. infestans* owing to presence of resistant genes R_1 and R_4, the growth of intracellular hyphae of the pathogen is not inhibited, at least, within about 4 hours after penetration.

From the accumulated knowledge in this respect, it seems that the most evident cytological phenomenon having close connection with late blight resistance is the time elapsed from penetration of the fungus to the hyper-sensitive death of a host cell.[3,6,7]

(Hokkaido National Agricultural Experiment Station, Sapporo)

雑　　録

タバコ黒色根腐病菌の新単離法

Tadao SHIMIZU: A new method for isolation of *Tielaviopsis basicola*.

清　水　忠　夫*

タバコ黒色根腐病菌 *Thielaviopsis basicola* はおかす部分が土壌中の部分であるから単離が困難な菌のひとつである。従来その単離には特殊な培地を用いたり，またペトリ皿に沪紙をおき，その上でタバコを発芽させ，発芽直後の子葉に胞子浮游液を散布する方法が用いられている。著者は本病におかされたタバコの根および土壌から本菌を容易に単離し，同時に病原性の検定にも応用できるひとつの新しいタバコの茎を用いた方法を考案した。この方法によれば極めて簡単に確実に単離されるようである。

まず根の病斑部から分離しようとするならば，無病と思われる本病に感受性の高い品種の若いタバコ（草丈20cm, 幹径0.8—1.0cm）の葉を除いた茎を，0.1％昇汞水に浸漬し蒸溜水で洗滌した後，消毒した刃物で5.6cmぐらいの長さに切る。その中間に70％アルコールで消毒した三角刀をもつて，縦に約1cm深さ髄に達する傷をつけて病組織片を挿入する。接種した茎は，水を含ませた沪紙（石英砂でもよい）を入れた，予め消毒しておいたペトリ皿に入れる。それを20°—26° Cの恒温器におけば2日ないし6日で病組織片を挿入した部分と両端の切口とに，内生胞子および厚膜胞子とを生ずる。これらの胞子のうち切口に生じた部分から白金耳で殺菌水に移し，さらに馬鈴薯寒天培地に移せば純粋培養がえられる。土壌よりの分離は，ササゲ（*Vigna sinensis*）を発病させ，その病斑部から前記の方法で単離できる。菌はタバコの茎のなかを通つて両端に出てくるが，そのとき他のタバコに寄生性のない菌は，タバコの茎のなかを通ることができないから，たやすく純粋培養がえられる。

この方法によれば，胞子形成の良好なものは，いずれも感受性品種であり，抵抗性の強いものは菌の生長がわるい。抗抵性の差が胞子形成の多少，または菌の生長によつて認められるから，この方法によつて抵抗性品種のある程度の室内検定に適用することができると思われる。

* 秦野たばこ試験場

馬鈴薯疫病菌の生理学的研究 第9報

アミラーゼの性質に就いて I

酒 井 隆 太 郎*

Ryutaro SAKAI: Physiological studies on *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. Part 9. On the physiological properties of amylase (I).

1. 緒　言

Lepik[3], Meyer[4] らは馬鈴薯疫病菌に侵された馬鈴薯塊茎の病斑部組織の澱粉粒は，罹病程度が進むと，まずその表面に侵蝕が見られ，ついで徐々に溶解することを観察し，また定量的にも澱粉が減少することから，本菌は寄主組織内の澱粉を利用することを報告している。然し Sukhorukoff[13] らは，本菌々糸はアミラーゼを有せず，従つて合成培地では澱粉を利用しない。又アミラーゼ作用を阻害するような物質 (sisto amylase) を葉，塊茎にもつ馬鈴薯品種は本病に対し抵抗性を示すと報告している。この点に関しては筆者がすでに報告した[9]，澱粉を炭素源とした培養液では菌糸の生育は極めて不良であるという事実と一致する。しかしその後筆者が前と同系統の菌で行つた実験で dextrin を炭素源とした培地に菌糸が生育し，その生育量は maltose を用いた場合にほぼ匹敵する結果が得られた。この事実から本菌々糸が dextrin を糖化利用する作用を持つように考えられた。これらの実験に基ずいて予備実験を行つた結果，培養菌体の抽出液がアミラーゼの作用を示すことを認めた。これは Sukhorukoff[13] らの報告と相反するが，この相異は他の多くの糸状菌と同様，本菌アミラーゼの生成が培地の組成，培養条件或は菌の系統によつて異る為かもしれない。これらについて引続き実験を行つているが，本報告では従来供試した馬鈴薯疫病菌 (H_1, RaceO**) に認められたアミラーゼの主な生理作用及びその組成の 2，3 について報告する。

2. 実験材料及び実験方法

供試した馬鈴薯疫病菌は前と同じ北海道農試病理研究室保存 H_1菌(RaceO)である[12]。使用培養液はAsparagine-glucose 液[11]でその組成は次の通りである。

Asparagine 1.3g, KH_2PO_4 0.5g, K_2HPO_4 0.5g, $MgSO_4\cdot 7H_2O$ 0.5g, $CaCl_2\cdot 2H_2O$ 0.1g, glucose 30.0g, $FeCl_3$ 0.001g, thiamine 200γ. これに蒸溜水を加えて 1l とし (pH 5.5 に調整した)，これを 100ml 容三角フラスコに20ml 宛分注して用いた。なお培養液の作成，接種菌の育生，接種及び培養等の操作はすべて既報[9,10,11]に準じて行つた。

培養 20〜30 日後，ほぼ最大生育量に達した数個の菌体を沪別し，菌糸を水で十分洗滌，沪紙にはさんで圧搾し水分を除いた。これを硫酸デシケーター中で真空乾燥，乳鉢で粉末化して冷所に保存した。また培養沪液は直ちに実験に供した。

酵素液の調製：外生アミラーゼの測定には培養沪液そのままを用い，内生アミラーゼの測定には菌体粉末 0.5〜0.8g に蒸溜水 20〜30ml 及びトルオールを防腐剤として加え，37°C で 16 時間抽出した。後少量の硅藻土を加え徐々に吸引沪過して得た透明沪液を用いた。

アミラーゼ測定法：糖化力測定には 0.5%可溶性澱粉液 (N/30-酢酸・酢酸曹達緩衝液を含む) 20cc+酵素液 2ml+トルオール 1%，又糊精化力測定には可溶性澱粉液を 0.1%とした以外同一の混合比のものを用いた。

反応温度は 40°C とし作用後，一定時間毎に作用混液の一部について還元力および沃度澱粉反応を測定した。試薬として N/10-沃度・沃度加里 0.5ml を作用混液 1 ml と蒸溜水 4 ml に加え，その色調によつて糊精化度を比較した。又還元力は Hanes 法により測定した。なお実験は3回ずつ反覆したが，大体同様の結果を得た。

3. 実験結果

(1) 最適水素イオン濃度

a. pH と糖化力　本菌の内生及び外生アミラーゼ作用の最適 pH を知る為，酢酸緩衝液を用いて反応液の pH を 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 に補正した。

* 北海道農業試験場病理昆虫部病害第一研究室
** 国際命名規約による

各区を設け，作用後一定時間における糖化力を測定した。その結果は第1図に示す如くである。図中の数字は還元糖を滴定するに要する N/100 $Na_2S_2O_3$ の ml 量から，実験開始直後の反応液及び各測定時における酵素液中に存在する還元物質の滴定に要する ml 数を差引いたものである。以下の各図も同様にした。

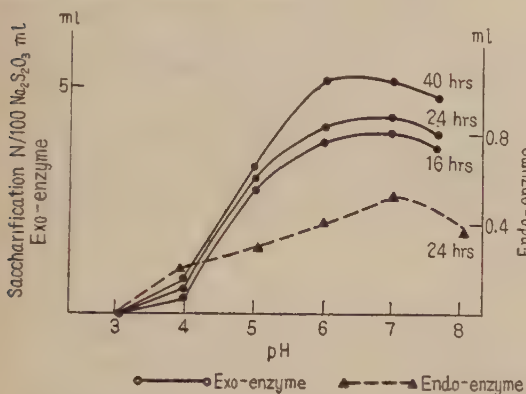


Fig. 1. Relation of hydrogen-ion concentration of amylase activity (saccharification) in the mycelium and culture filtrate of *P. infestans.*

Reducing powers were measured by Hanes method and indicated as N/100 $Na_2S_2O_3$ ml.

Fig. 1. に示す通り本菌一アミラーゼの糖化作用に対する最適 pH は内生外生酵素とも大体 pH 6.0～7.0 で，比較的アルカリ性側で安定の様に思われる。なお一般に内生アミラーゼは外生アミラーゼに比し各 pH に対する作用の差が顕著であつた。

b. pH と糊精化力　内生及び外生一アミラーゼの糊精化作用と pH との関係は第1表に示すとうりである。

Table 1. Relation of hydrogen-ion concentration to α-amylase activity in the mycelium and culture filtrate of *P. infestans* by iodine-starch reaction.

	Time of action (hrs) \ pH	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
Exo-enzyme	16	Blue	Blue	Blue	Blue-Violet	Blue-Violet	Blue-Violet
	20	Blue	Blue	Blue	Violet	Red-Violet	Violet
	24	Blue	Blue	Blue-Violet	Brown	Brown	Red
Endo-enzyme	24	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
	48	Blue	Blue	Blue	Violet	Violet	Violet-Red
	72	Blue	Blue	Violet	Yellow	Red	Red

表中糊精化度は，各測定時における沃度澱粉反応の色調によつて示した。なお黄色は沃度澱粉反応が全く消失した場合である。

（2） 最適作用温度

a. 作用温度と糖化力　本菌アミラーゼの糖化力に対する最適作用温度を知るため 20°，30°，40°，50°C の各区を設け，前項に示した結果より反応液の pH を 7.0 とし，作用後 24，48，72時間における糖化力を測定した。その結果は第2図の如くである。

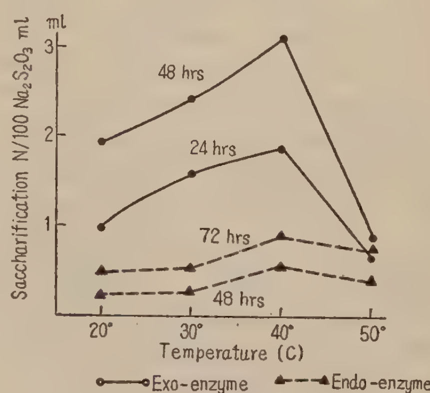


Fig. 2. Relation of temperature to amylase activity (saccharification) in the mycelium and culture filtrate of *P.infestans.*

Fig 2. で明らかな如く内生，外生アミラーゼとも糖化力に対する最適作用温度は大体 40°C である。なお内生酵素は外生酵素に比し各作用温度に対する作用力の差が顕著であつた。また内生酵素は 50°C では却つて低温のものより糖化カーブが低下する。これらの結果から本菌アミラーゼは他の多くの糸状菌に比し，比較的熱に不安定の様に思われる。

b. 作用温度と糊精化力　前記と同様にして内生，外生アミラーゼの糊精化力に対する最適温度を測定した結果を第2表に示す。

Table 2. で明かな如く内生，外生酵素の糊精化力に対する最適温度は 40°C であつて，糖化力のそれと一致する。

Table 2. Relation of temperature to α-amylase activity in the mycelium and culture filtrate of *P. infestans.*

	Time of action (hrs) \ Temperature (C)	20°	30°	40°	50°
Exo-enzyme	24	Blue	Blue	Violet-Blue	Blue-Violet
	48	Blue	Blue	Violet	Violet-Blue
	72	Blue	Dark-Violet	Red	Violet
Endo-enzyme	24	Blue	Blue	Blue	Blue
	48	Blue-Violet	Blue-Violet	Blue-Violet	Blue
	72	Blue	Blue-Violet	Violet	Blue-Violet
	96	Blue	Violet	Red	Violet-Blue

（3） 耐　熱　性

以上の実験で最も安定と見られる pH7.0 において，50°, 60°, 63°, 67° 及び 70°C に対する本酵素の耐熱性をしらべた。即ち pH7.0 に調整した酵素液の一定量をフラスコにとり，各処理温度の恒温浴中に15分間保つた後水冷して室温とし，これを酵素源として糖化力並びに糊精化力の測定を試みた。その結果を示すと第3図(1),(2) 及び第3表に示す如くである。なお本実験では内生酵素についてのみ行つた。

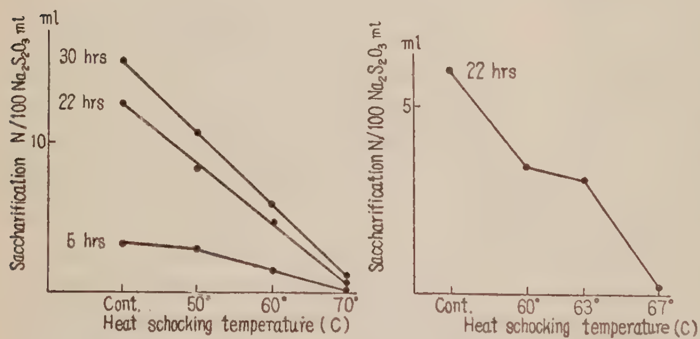


Fig. 3. Resistance of amylase activity (saccharification) in the mycelium of *P. infestans* to heat schocking.

Fig 3. についてみると本菌アミラーゼの糖化力は 67°～70°C, 15分の前処理で完全に不活性化した。また 60°～63°C では大体 50 %程度失活するが, 50°C では可成り安定で，30時間後，なお 74 % の活力を残存した。糊精化力は糖化力の場合と大体等しく70°C 15分の前処理で不活性化した。また 50°C では安定で殆んど無処理区に等しい。これらの結果は糊精化酵素

Table 3. Resistance of α-amylase in the mycelium of *P. infestans* to heat shoking.

Time of action \ Heat shoking temperature (C)	Cont.	50°	60°	70°
5 hrs	Brown	Brown	Violet	Blue
22 hrs	Yellow	Yellow	Yellow	Blue

即ち α-アミラーゼの耐熱性は糖化酵素のそれよりやや強いことを示すようである。

（4） 耐　酸　性　酵素液を pH 3.0, 3.5, 4.0, 5.0 に調整し，40°C 15分恒温浴中に保つた後，N/10 NaOH でもとの pH に戻し，水を加えて一定量としてこれを酵素源とした。

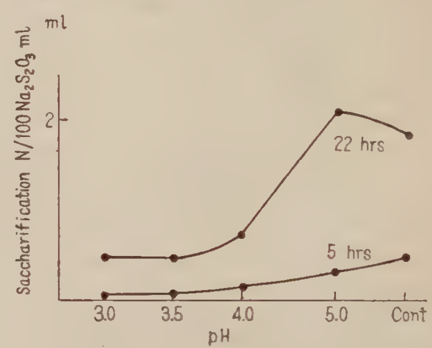


Fig. 4. Resistance of amylase activity in the mycelium of *P. infestans* to H-ion concentration at 40°C, for 15 min.

反応液は pH 7.0, 40°C で糖化力並びに糊精化力を測定し，第4図第4表に示す結果を得た。なお酵素源は内生酵素についてのみ行つた。

本酵素の耐酸性を糖化力についてみると pH が 5.0 より低下するに伴つて糖化曲線は下降し，pH3.0, 3.5 では顕著に低下するようである。また pH5.0 の前処理の糖化力が最も強いことが示された。次に糊精化力は前処理 pH3.0～3.5, 40°C,

Table 4. Resistance of α-amylase activity in the mycelium of *P.infestans* to H-ion concentration at 40°C, for 15 min.

Time of action \ pH	Cont. (5.8)	3.0	3.5	4.0	5.0
5 hrs	Light-Blue	Blue	Blue	Light-Blue	Violet
22 hrs	Light-Violet	Blue	Blue	Light-Red	Yellow

15分の処理によつて沃度澱粉反応消失力即ち α-アミラーゼ作用力は完全に失われた。

4. 考　　察

前述のように一般糸状菌におけると同様馬鈴薯疫病菌においても菌糸並びに培養液中にアミラーゼ作用が認められ，本菌は内生及び外生酵素としてアミラーゼを有することが判明した。これらの両酵素はその作用上の性質から，その酵素的組成は殆んど同一と考えられた。なお内生酵素は外生酵素に比し各処理の影響が顕著であるが，これは外生酵素源として培養沪液をそのまま用いた結果，沪液中に混在する他の物質の作用の影響によることと，本酵素の生産量が比較的少量のためと考えられる。

次に本菌アミラーゼ作用の最適水素イオン濃度は糖化力，糊精化力とも大体等しくpH6.0〜7.0附近にあるようであつて，糊精化及び糖化両アミラーゼの最適作用条件は区別し得なかつた。岡崎[8]は麴菌（*Aspergilus oryzae*）に対して pH4.2〜5.2，また永田は[5]白絹病菌（*Corticium centrifugum*）で pH4.4 を夫々アミラーゼの最適水素イオン濃度としているが，本菌アミラーゼの最適水素イオン濃度は一般糸状菌のそれに比し可成りアルカリ性に傾いている。なお長友[6]は最適水素イオン濃度は菌株の種類，またはアミラーゼの組成によつて多少異なることを報告している。

アミラーゼ作用の最適作用温度は糊精化力，糖化力共に 40°C であつて，一般糸状菌のそれと比較して 10° 乃至 15°C 低温である。

Ohlsson[7]は麦芽の α-アミラーゼは耐熱性で酸に弱く，β-アミラーゼは耐酸性で熱に弱い性質を利用して両酵素を分離し，その組成を明かにしたが，本法が他の糸状菌のアミラーゼに適用できないことは，北野[2]，徳岡[14]，北原[1]等により示された。これを本菌アミラーゼについてみると，その耐熱性において糊精化力と糖化力とではやや異なる，即ち糖化力は 60°C, pH7.0, 15分の前処理で非常に低下するのに反し，糊精化力はなお相当保持されるようであつた。これらの事実より本菌のアミラーゼは α-アミラーゼを相当含むことが考えられる。

なお 70°C，pH 7.0，15分の前処理では両作用力とも完全に失われるから，麦芽[7]，白絹病菌[5]のアミラーゼ作用力に比し耐熱性が弱いことがわかる。また本酵素の耐酸性は前処理 pH3.5，40°C，15分で α-アミラーゼ作用は完全に不活性化するが，微弱な糖化力は残存する。この糖化は微弱な糖化アミラーゼの作用によると考えられる。

上述の如きアミラーゼ作用の性質よりすると，本菌アミラーゼの組成は α-アミラーゼを主体とし，且つ微量の糖化アミラーゼを同伴すると思われる。而して炭素源として澱粉或は dextrin 等を与えた場合，本菌アミラーゼの特異性として，重合度が或程度以下の dextrin に対しては親和力を示し，従つてこれ以上の重合度を持つ dextrin 或は澱粉が与えられた場合は之を利用し得ないのではないか，或はこの様なアミラーゼの特異性が培地，培養条件等に如何に影響されるか等を確めることは，本菌の培養性質或は寄生性の究明上，今後に残された問題と思われる。

5. 摘　　要

1．本報告は馬鈴薯疫病菌アミラーゼの主な作用上の性質及び組成について実験した結果を記載した。

2．本菌は菌糸および培養沪液にアミラーゼを生成し，これらの作用上の性質はほぼ等しく，その組成は同一と考えられる。

3．本菌アミラーゼの糊精化力並びに糖化力に対する最適水素イオン濃度はいずれも大体 pH6.0〜7.0 の間にある。

4．本菌アミラーゼの糊精化力並びに糖化力に対する最適作用温度は，共に 40°C 附近にある。

5．本菌アミラーゼの耐熱性は糊精化，糖化力とも 70°C，pH7.0，15分の前処理によつて不活性化する。

6．本菌アミラーゼの糊精化力の耐酸性は pH3.5, 40°C, 15分の前処理で殆んど不活性化されるが，なお微弱な糖化力は残存する。

7．本菌アミラーゼの組成はその大部分が糊精化酵素即ち α-アミラーゼであつて，少量の糖化酵素を同伴すると考えられる。（昭和31年7月17日受理）

引　用　文　献

1）北原覚雄：醱酵工学, 27：1〜5. (1949).
2）北野登志雄：工　化, 38：1049. (1935).
3）Lepik, E.: Phytopath. Z., 1：49〜109. (1929).
4）Meyer, G.: Arb. a. d. Biolog. Reichsanst. f. L. u. F., 23：97〜132. (1940).
5）永田幸雄・樋浦誠：岐阜農林学術報告, 68：20〜24. (1950).
6）長友武夫：日農化誌, 15：753〜756. (1939).
7）Ohlsson, Z.: Physiol. Chem., 189：57. (1930).
8）岡崎　浩：酵素化学シンポジウム, 1：60. (1949).

9) 酒井隆太郎：北海道農試彙報，68：63〜66.(1955).
10) ————：日植病報，19：141〜145. (1955).
11) ————：北海道農試彙報，71：51〜55.(1956).
12) 高桑亮・高瀬昇・富山宏平：日植病報，19：114〜116. (1955).
13) Sukhorukoff, I., Kling, E., Ovcarov, K.: C.R. Acad. Sci. U. R. S. S., N. S., 18 (8): 597〜602. (1938). (R. A. M., 8: 596).
14) 徳岡有三：日農化誌，14：829. (1938).

Résumé

The purpose of the present experiment is to make clear the physiological properties of amylase of *Phytophthora infestans*. The stock culture H_1 (RaceO) employed in the present investigation is the common race which was isolated from naturally-infected leaves of the variety Irish Cobbler at the Hokkaido National Agricultural Experiment Station.

The base medium for the experiments was of the following composition, in gm/l: asparagine, 1.3; KH_2PO_4, 0.5; K_2HPO_4, 0.5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.5; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0,5; glucose, 30.0; $FeCl_3$, 0.001; and thiamine, 0.1 ppm.

The amylase formation of the fungus has been recognized both in the mycelium and in the culture filtrate, but its activity was weak. The optimum hydrogen-ion concentration for saccharogenic and dextriogenic activities of the enzyme was approximately pH6.0〜7.0 and the optimum temperature seems to lie at 40°C. Saccharogenic and dextriogenic activities of the enzyme in the mycelium were inactivated by heating the mycelial extract at pH7.0 at 70°C for 15 minutes. On the other hand, when the extract of the mycelium was acidified to pH3.5, held at 40°C for 15 minutes, and neutralized, the dextriogenic activity was almost inactivated, while saccharogenic activity remained in a small degree. From the above results, the writer concludes that the amylase of *P. infestans* is composed chiefly of α-amylase and contains a small amount of saccharifying enzyme. (National Agricultural Experimental Station of Hokkaido.)

文 献 紹 介

針葉樹の *Phacidiopycnis* (*Phomopsis*) による胴枯病 [*Phacidiopycnis* (*phomopsis*) canker and dieback of conifers]

Hahn, G. G.: Plant Disease Reporters., 41: 623〜633. 1957.

1920年イギリスにおいて Wilson が Donglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) の胴枝枯性病害の病原菌を *Phomopsis pseudotsugae* として報告して以来，各種針葉樹のいわゆる *Phomopsis* 病に関して多数の論文が発表されてきた。しかし筆者は最近アメリカのメイン州において，ストローブマツ (*Pinus strobus*) の上に *Phomopsis pseudotsugae* 菌の完全時代を発見し，その分類学的所属を検討した結果，この菌が *Phacidiella* 属の新種であることを確認し *Phacidiella coniferarum* sp. nov.と命名，その不完全時代も *Phomopsis* 属ではなく *Phacidiopycnis* 属であることをあきらかにし *Ph. pseudotsugae* (Wils.) Hahn とした(Mycologia 49: 226〜239. 1957)。

本菌による病害はヨーロッパおよび北米に分布し，苗木および人工植栽の幼令造林木に発生する。寄主としては *Abies fraseri*, *Larix leptolepis* (カラマツ), *Picea abies*, *P. glauca*, *P. pungens*, *Pinus strobus* (ストローブマツ), *Pseudotsuga menziesii*, *P. menziesii var. glauca*, および *Tsuga canadensis* (カナダツガ) が知られている。また接種試験によつて，傷痍寄生菌であると，寄主の成長盛期である夏にはほとんど発病せず，発病はおもに秋から春のあいだの生長休止期ないしはその前後におきることなどが確認されている。

(小林享夫)

施肥した短葉松の窒素とカルシウムの吸収

Roth, E. R. and O. L. Copeland. Uptake of nitrogen and calcium by fertilized shortleaf pine. Jour. For., 55 (4): 281—284. (1957).

短葉松の小葉病 (littleleaf disease) の地上部における顕著な病徴は，針葉が黄化し，短い少量の着葉をみることで，この原因は栄養不良によるらしく見える。それですでに罹病したマツに肥料を与えた場合の効果および施肥によつて健全木が罹病するのを防ぐことができるかどうかを数カ年にわたつて実際の林地について試験した。

あらかじめ調べてみると，病葉においては健全葉にくらべて窒素，カルシウムおよびマグネシウムが著しく少い。硝酸ソーダを林地に施すと1年後には病木の葉の窒素含量ははなはだしく増加する。硫酸カルシウムエーカー当り1000*lb*を単独あるいは硝酸ソーダと共に施すと葉のカルシウム含量は増大する。そしてこの効果は施与3年後においても顕著である。窒素をエーカー当り300〜328*lb*与えることにより，病木を回復させることができた。

(伊藤一雄)

タバコモザイク病の罹病時期とタバコの収量および品質との関係

樫原幸春*・日高　醇**

Yukiharu KASHIHARA and Zyun HIDAKA: Effects of Tobacco Mosaic Disease on the Yield and Quality of Tobacco.

1. 緒　　言

タバコモザイク病はタバコにおいては，罹病率が極めて高く，都丸・日高 (1956) によれば，紙巻たばこのどの1本，刻たばこのどの1つまみにも，本病のウイルスが検出されないものはないといつてよいほどである。しかしその被害額については，罹病しても病勢が漸進的であつて直ちに枯死することがないから認識が少なく極めて軽微であるかのように考えられてきている。今日までにその被害についてはValleau et al. (1927) は，植付期の罹病では量目において 43.1 %価格において 61.7 %，心止期に罹病すれば量目には差がないが，価格では 25.1 %の低下であると報告している。 McMurtrey (1929) も3カ年の実験結果の平均として，植付から1カ月後（本土寄期）までに罹病すれば，量目及び品質ともに同程度の低下であつて(量目では32%，品質では 29.6 %)，単位面積当りの価格では 57.4 %の被害であり， 2カ月後（心止期)の罹病では量目5.4%，品質9.3%の低下,価格にして13.5%の被害であることを記している。Wolf et al. (1933)および Adsuar et al. (1954)もほぼ前2者と同様の被害率を報告している。これらの被害については，ダイコンのある種のウイルス病で同様のことが本橋・梅沢 (1954) によつて研究され，量目では 30～40 %少なくなり，市場に出しうる上大根が 1/2～3/4に減少し，地上部に現われた病徴は軽くても被害は大きいことを報告している。以上の如く罹病すれば，被害は大きいのであるが被害額についての認識が少なく，また被害の見込についても不明の点が多いので，筆者らは 1948 年より 1952 年まで4カ年にわたつて，タバコモザイク病について直接畑において実験を重ねてきた。その結果についてここに報告する。

2. 実験方法および材料

畑に移植したタバコに，移植当日接種，移植後 15日目,30日目,45日目の各接種区および無接種の5区を設けた。各区とも接種区には接種当時の最大葉にタバコモザイク病ウイルス (TMV) を塗抹法によつて接種した。供試したタバコの品種は，ブライトエロー (Bright Yellow) であり， TMVは秦野たばこ試験場に普通系として保存中のものを使用した。実験はすべて岡山たばこ試験場兵庫分場の畑で行つた。タバコの耕作法は同分場の標準耕作法に従つた。無接種区に対してはTMVが伝搬されないように細心の注意をはらつた。収穫したタバコの品位は，品質によつて 10 階級とした標準に準じて鑑定し，それを点数によつて表わした。品位は価格によつて表わすこともできるが，価格は年次によつて変化があるから，一定の標準による方が比較に便利である。

3. 実験結果および論議

移植当日接種区では接種後 11 日目頃に心葉が淡緑色になり，15日目頃には心葉3～4枚に濃淡の斑を生じて，特長のあるタバコモザイク病の病徴となつた。ひどい濃淡斑となつた部分は，後にその淡色の部分がえそ斑点となつたものもあつた。移植後 15 日目接種区および30日目接種区は，両区とも移種当日区よりも病徴発現までの期間が， 2～3日早かつたが，これは病徴の発現が生長にある程度比例するためであろう。移植当時は植えいたみのために生長がおそいが，移植後 20 日もたてば，生長が極めて速かになるから病徴

* 岡山たばこ試験場兵庫分場
** 秦野たばこ試験場

TABLE 1. Growth of each plot at topping time

Inoculation time	Length of stem	Diam. of stem	No. of leaf above ground	Largest leaf		
				Length	Width	Situation
Check (no inoculation)	116.2 cm	2.4 cm	19.5 cm	56.2 cm	25.1 cm	7.9 no
The day of transplanting	84.2	2.3	21.9	52.3	19.4	10.5
15th day after transplanting	82.7	2.3	19.0	52.2	21.2	8.5
30th day after transplanting	99.2	2.4	19.6	52.9	21.7	8.1
45th day after transplanting	111.3	2.4	20.2	55.3	25.5	8.1

Remarks: Diameter of stem is measured at 10 cm above ground; situation of largest leaf is counted from lower leaves. Each heading of the table is a mean value of 10 plants, and of the three years results.

の発現もはやくなると思われる。また病徴は早く罹病するほどひどくなり，生長してしまつた部分には軽いのが普通であるから，移植当日区から 30 日目区までが最もひどかつた。 45 日目接種区では，すでに発蕾期に入り心止の頃であるから，一部に病徴は認められても接種当時にすでに大部分生長してしまつて，葉の展開が終つているので，病徴が現われにくくまた軽微である。心止期における各区の生育状態は Table 1 の如くである。

30 日目区までは生長にひどく影響しているが， 45 日目区は無接種区とほとんど変りなく生長している。この時期における病徴は移植当日区では，全身的にモザイク症状が現われ，草丈も低く葉も小さい。発蕾は無接種区にくらべて， 30 日目区はやや早く，45 日目区は同日であり，当日区及び 15 日目区は 4～5 日おくれ，しかも発蕾が不同であつた。当日， 15 日目および 30 日目接種の各区では，下葉 4～5 枚に淡色の部分にえそを生じ，後にはそれらの葉まで枯上つてきた。 45 日目接種区はわずかに 4～5 枚の葉に軽い濃淡斑を現わしたに過ぎなかつた。心止後はそれらの濃淡斑を現わした葉も心止によつて大部分が切り取られてしまつたので，病徴はほとんど判らない状態であつた。わき芽には無接種区を除いてはどの区でもひどく病徴が現われた。

Table 2 には 1949 年， 1950 年および 1952 年の収穫物の成績を記したが，同様の試験を 1948 年にも行つてほとんど同様の成績をえた。

Table 2 によれば， 1949 年と 1950 年とは同様の傾向であるが， 1952 年は量目は無接種区と他の各区との間に前 2 カ年のような差が見られない。これは 1952年には無接種区および後期の接種区では，心止より収穫の中期まで降雨が多く，下葉の枯上りが著しかつたが，早期の接種区の当日区および15日目区は枯上りが少なく，またえそ斑も少なかつたから，量目の減少が比較的少なかつたものと思われる。1949年，1950年および1952年の 3 カ年の成績を平均すれば，移植当日，移植後 15日目，30日目および 45日目接種の各区は量目においてそれぞれ 42 %，38%，32%，および 10 %を減少している。品質では当日区および15日目区は 61 %， 30 日目区は 37 %， 45 日目区でも 15 %を低下している。従つてこれらの量目および品質の低下によつて単位面積当りの収穫では当日区 77 %， 15 日目区 76 %，30 日目区 57 %，45 日目区でも 22% の被害である。 45 日目区では心止後はわき芽以外には，ことに収穫葉にはほとんど病徴が見られなかつたほど軽微であつても， 22 %の被害であつた。畑では一般に心止後のわき芽には濃淡斑が見られないものはないほど罹病率は高い。単なる推定ではあるが，収穫の末期には 80 %の罹病率があると思われるから，被害は莫大な額にのぼるであろう。平年作はすでにこの被害が差引かれているものであるから，もしその被害を半減することができるならば，量目の増加はもちろん品質の向上による利益は大きいであろう。タバコモザイク病の被害は量目よりも品質におよぼす影響が大きい。

これらの結果はValleau et al. (1929)， McMurtrey (1929) およびその他の人々の報告とほぼ一致している。 1948 年の結果も，ここにあげた 3 カ年の結果



A B C D E

Explanation of the plate: Growth of each plot at topping time.

A. Check
B. Inoculation on the day of transplaning
C. Inoculation on the 15th day after transplanting
D. Inoculation on the 30th day after transplanting
E. Inoculation on the 45th day after transplanting

と一致するから，タバコモザイク病の被害の状態は，その罹病の時期によつて大体を推定することができるであろう。

TABLE 2. Results of harvest of each plot for three years.

Year	Plot	Weight per *tan*	Marks per kg	Marks per *tan*
1949	Check (no inoculation)	kg 158.3	52.8	8,358.2
	The day of transplanting	89.5	23.3	2,085.4
	15th day after 〃	—	—	—
	30th day after 〃	108.8	35.1	3,818.9
	45th day after 〃	158.8	45.0	7,146.0
1950	Check (no inoculation)	142.9	34.6	4,944.3
	The day of transplanting	55.8	9.9	552.4
	15th day after 〃	77.5	13.1	1,015.3
	30th day after 〃	90.4	21.0	1,898.4
	45th day after 〃	122.0	32.2	3.928.4
1952	Check (no inoculation)	78.9	42.9	3,384.8
	The day of transplanting	75.5	18.0	1,359.0
	15th day after 〃	81.7	19.8	1,617.7
	30th day after 〃	63.3	25.9	1,639.5
	45th day after 〃	65.0	34.1	2,216.5
Average above three years	Check (no inoculation)	127.7 (100.00)	43.4 (100.00)	5,498.8 (100.00)
	The day of transplanting	73.6 (57.64)	17.1 (39.40)	1,258.6 (22.89)
	15th day after 〃	79.6 (62.33)	16.5 (38.02)	1,313.4 (23.89)
	30th day after 〃	87.5 (68.52)	27.3 (62.90)	2,388.8 (43.44)
	45th day after 〃	115.3 (90.29)	37.1 (85.48)	4,277.6 (77.79)

Remarks: Marks per kilogram are determined after comparing each sheaf with the standard sheaves. The standard sheaves are divided into 10 grades by quality, and then computed into kilograms. Numbers in ( ) are percentages. *tan*= about 1/10 hectar

タバコモザイク病と同様に濃淡斑を表わすダイコンのある種のウイルス病について本橋・梅沢 (1954) が報告しているところも，前述の結果によく一致している。おそらく濃淡斑の病状を呈するウイルス病はその被害においては同様の傾向があるのではなかろうか。

摘要

タバコモザイク病の罹病時期とタバコの収量および品質との関係を1949年，1950年および1952年の3カ年にわたつて研究した。移植当日，移植後 15 日目，30 日目， 45 日目接種の各区は無接種区にくらべて，量目においてそれぞれ 42 %，38 %，32 %，および 10 %，品質においては 61%，62 %，37 %および 15% を低下した。これを単位面積の被害額で表わせば，それぞれ 77 %， 76 %， 57 %および 22 %を減少している。当日区と 15 日目区との間には差はないが，早く罹病するほど被害が大きい。量目よりも品質の低下が著しい。罹病時期によつて大体の被害額を推定することができるであろう。

(1956年8月31日受理)

引用文献

1) Adsuar, J., Amy, A. S., and Lopez Matos, L.: J. Agric. Univ. P. R., 38 (2) : 105～107. (1954). [R. A. M., 33 (12) : 762. (1954)

2) McMurtrey, J. E.:Jour. Agr. Res., 38 : 257～267. (1929).

3) 本橋精一・梅沢幸治:関東東山病害虫研究会年報，(1) : 27～28. (1954).

4) 都丸敬一・日高 醇：日植病報，22(2) :65～69. (1957).

5) Valleau, W.D. and Johnson, E. M.:Phytopath., 17 : 523～527. (1927).

6) Wolf, F. A. and Moss, E. G.:Phytopath., 23 : 834～836. (1933).

Summary

The writers studied the effects of tobacco mosaic virus on the yield and quality of tobacco through the different stages of plant growth during the years of 1949,1950 and 1952. As observed in the different plot of inoculation effected on the day of transplanting, on the 15-th day after transplanting, on the 30th day after transplanting, and the plot of non-inoculation with the virus, the virus registered a reduction of 42 %, 38 %, 32 %, and 10 % on the yield and reduction of 61%, 62%, 37% and 15 % in quality when expressed as damage for unit, this reduction represent 77%, 76%, 57%, and 22%, respectively. The difference in the severity of damage between the plot of inoculation on the day of transplanting and that of 15 days after, the yield and quality of tobacco were found to be very adversely affected by the disease, especially when the infection took place soon after transplanting. The virus affects can, therefore, be roughly measured by the plant growth stage at the time of virus infection. (Hatano Tobacco Experiment Station)

文献紹介

病原菌の培養条件と病原性

Zogg, H. (1957) : Über die Beeinflüssung von Pathogenität und Wachstum pflanzlicher Parasiten. I. Wirkung der Vorkultur auf verschiedene Fusskrankheitserreger bei Getreide. Phytopath, Z. 28 (4) : 423～426. II. Vitamine B_1 und Biotin ; *Calonectria graminicola*. Phytopath. Z. 29 (1) : 65～71.

小麦の立枯性病害を起す*Hendersonia aberrans*, *Calonectria graminicola*, *Ophiobolus herpotrichus*, *Septoria tritici* の4種の菌を2%Marzagar上に継続培養したところ，*H. aberrans* 及び *C. graminicora* はそれぞれ6年，4年後に病原力が半分に低下し，*O, graminicola* 及び(*S.tritici*)では6年，4 1/2年後に殆んど病原力を失つた。これらを（1）人工培養液（2 %Glukose, 1.2‰ Glykokoll, 1.5‰ KH_2PO_4, 0.5‰$MgSO_4$, $FeCl_3$痕跡, 20 γ/l Vit B_1) に 20～45 日培養，(2)殺菌小麦藁（小麦藁小片1部：水6部）上に 20～45 日培養，(3)殺菌小麦藁上 67日，更に人工培養液上 20～45 日培養，(4)殺菌小麦藁上 67 日，更に同上 20～45 日培養の4種の培養を行つた。一方小麦の催芽種子をポットに播き，培養菌を接種して覆土し，クノツプ氏液で小麦苗を培養し，17～18 日後に苗の罹病度から病原力を測定した。その結果(2),(4)の培養を行つたものは *S. tritici* では最初の半分程度まで病原力を恢復し，他の3者では殆んど完全に恢復した。この事からこれら病菌の病原力は接種前の培養条件により大きな影響を受けることが分る。

次に前記の4年間培養の *C. graminicola* を選び，B_1 或は Biotin の 0, 0.5, 5, 50, 500γ/l, 或はその組合せを加えた前記人工培養液に移植培養し，菌糸の生長量（乾燥量）を測定すると共に前述と同様にして催芽種子に接種して罹病度より病原力の変化を見た。その結果病菌の生長はB_1 50～500γ/l, Biotin 0.5―500γ/l の組合せでは良いが，罹病度は Biotin が増加すると低下し，B_1が増加すると僅かに増大した。即ち病原力と菌糸の生長との間には関係が認められず，従つて病原力の変化は prä-infektionell であると考えられる。 （岩田吉人）

稲熱病のワクチン療法に関する研究

第10報 植物生長ホルモンの検出

渡 邊 龍 雄*

Tatsuo WATANABE: Studies on the Vaccine Therapy of the Blast Disease of Rice plants X.—The Detection of the Plant Hormone.

1. 緒 言

稲熱病のドライワクチンBの 0.5～0.7 %液に，稲種子を8時間浸漬処理することが，稲の生育を良くし，葉，節，頸稲熱病の発生を著しく抑制し，延いては収量に大きく影響することを，既に数次に亘つて発表[6]しているが，これは果して如何なる原因によるか，その免疫機作を確めることは，ワクチン療法の今後の発展上極めて有意義のことである。これを究明せんとして，まず，ワクチンそのものの含有成分，とくに植物生長ホルモンの存否を検出しようとして，次のような実験を行つたので，その概要をまとめて報告する。なお，この報告の一部は昭和 31 年4月の学会で発表[7]している。この報告をなすに当り，この実験をとくに援助された本学栽培学教室の竹松哲夫講師，実験を直接担当された佐々木邦夫，橋本三郎両君に対し，深甚の謝意を表する。

2. ドライワクチンBの植物生長ホルモンの検出

A. 豌豆試験法

豌豆の茎の生長帯を縦の方向に裂け目を作つて2分すると，この両方の部分は水の中で外方に，ホルモン溶液中では内方に屈曲するという現象は，伸長生長中の器官，とくに茎に一般的に見られるようである。普通の状態では，表皮細胞は膨脹した状態にあり，髄細胞は圧縮された状態であるから，この外方への屈曲は組織張力に基ずくものであり，内方への屈曲は複雑な性質を有する不均等の生長現象であると Jost 及び Reiss (1936) 等は述べている。Went (1934) によれば，豌豆の茎におけるような屈曲は，ホルモンに対して便利な定量試験として用いられるという。また多くの他の種類の植物の茎，幼葉鞘も同様に反応する。豌豆は純系のものを用い，水中に6時間浸し，暗室で湿つた砂を大きなペトリ皿に盛り，これに播種し，28°C の定温器内で7日間発芽生長させると，10～12 cm の長さに生長する。これは頂端に葉をもつ1節と，その下に鱗片をもつ2節ができる。この頂端を頂芽の下方 5 mm の所から切り，さらに約 4 cm の長さに切り取り，鋭利な安全剃刀の刃で，茎の中心を縦の方向に約 3 cm の距離に裂け目をつけ，これを1時間水で洗う。

a. 第1回実験 稲熱病のドライワクチンBは 10 %，5 %，2.5 %，1 %の水溶液をつくり，標準区として蒸溜水の外に合成植物生長ホルモンである 2･4—D と MCP (何れもナトリウム塩 % は有効酸量 %) の 0.01 %，0.001 %，0.0001 %，0.00001 %の4区を設け，各区ペトリ皿に 20 cc 宛をとり，前記豌豆の切片を4個投入し，分散光線下で 20 時間後において，投影写真をとり，内方に屈曲の程度により，植物生長ホルモンの存在を判定した。その結果稲熱病ワクチンの何れの溶液も多少とも内方に屈曲し，2･4—D と MCP と同様に植物生長ホルモンの存在を確め得たのである。

b. 第2回実験 稲熱病ワクチンは前回より濃度を低め，1 %，0.5 %，0.1 %の溶液をつくり，標準として蒸溜水の外に 2･4—D の 0.005 %区を設け，豌豆試験法を行つた。その結果稲熱病ワクチンは 1 %，0.5 %区は明らかに内方に屈曲し，2･4—D と同様に植物生長ホルモンの存在を示し，0.1 %と蒸溜水では何等反応を示さなかつた。

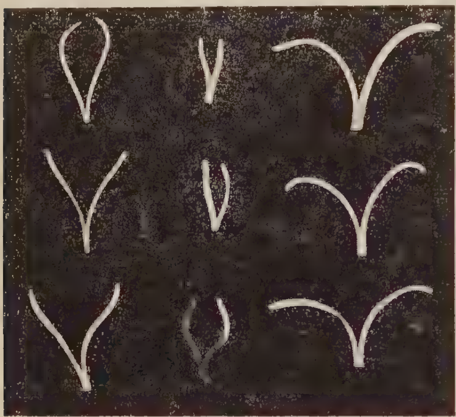
以上2回の実験結果から，稲熱病ドライワクチンBは 0.5 %のような低濃度においても反応を示すことから，ワクチン療法として最も効果ある 0.7 %は当然植物生長ホルモンを含有していると考えられる。

c. クロロフォルム及びエーテル抽出 植物体の生長ホルモンを任意の個所から抽出する方法に次の2つの方法がある。第1の方法は植物生長ホルモンを水或は膨潤ゲルに拡散させる Went 創始の方法で，燕

* 宇都宮大学農学部

麦の幼葉鞘の先端に寒天が用いられている。

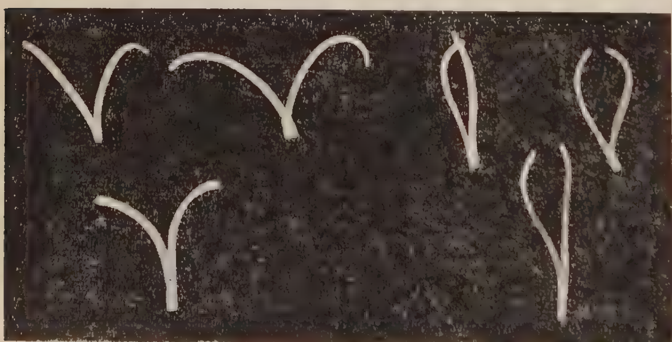
第2の方法は Thimann (1934), Boysen, Jensen (1936) 等が始めた方法で，溶媒を用いて直接植物の組織から抽出する方法である。この目的のために水，アルコール，エーテル及びクロロフオルム等が用いられている。著者の実験では第2の方法を用い，稲熱病ドライワクチンBをクロロフォルム或はエーテルで減圧蒸溜によつて抽出し，これを豌豆試験法によつて，その反応状況を投影写真にとり，豌豆の茎の内方に屈曲する程度により，植物生長ホルモンの存在を判定したのである。その結果は第1及び第2図によつて分るように，クロロフォルム，エーテル処理共豌豆の茎は内方に明らかに屈曲しており，植物生長ホルモンの存在を確認し得たのである。



抽出区　　抽出区　　標準区

B.R. クロロフオルム抽出試験

Fig. 1. Experiment of chloroform extracted juice of dry vaccine B of rice blast fungus. Right……control, Left and Middle……treated. (Curvature on the inner side)



標準区　　　　抽出区

B.R. エーテル抽出試験

Fig. 2. Experiment of ether extracted juice of dry vaccine B of rice blast fungus. Left……3 pieces, control. Right……3 pieces, treated. (Curvature on the inner side)

B. 砂耕栽培法

ホルモン様物質の存否により，根群の発達状況と茎長の生長関係を見るに，一般に生長ホルモン処理により，茎は促進され，根は抑制されるものである。供試種子は時無大根，陸稲（農林 26 号）を用い，ペトリ皿中に砂 65 g，ワクチン溶液は 2.3%，0.7%，0.35%，0.1%，0.05%，0.005%の6区と標準区として蒸溜水を用い，20 cc 宛注入し，これに大根と陸稲を播種後，分散光線下に放置し，発芽後の根長と茎長を測定した。ペトリ皿中から任意に 10 個体を取出し，測定して平均したものは第1表のようである。

Table 1. The growth condition of root and stem of radish and upland rice plant by sand culture method.

Name of plants	Length of root or stem (cm) \ Concentration (%)	2.3	0.7	0.35	0.1	0.05	0.005	control
Radish	Main root	0.38	0.59	0.56	1.10	1.18	1.36	3.31
	Young stem	1.27	2.26	3.78	4.08	5.24	4.96	6.40
Upland rice plant	Root	4.60	5.35	5.19	5.98	6.80	5.26	5.95
	stem	3.80	5.79	5.17	5.62	6.16	5.33	5.28

第1表に示すように，根長の抑制，茎長の促進の程度は必ずしも一定しないようであるが，その方向はやや認められる。今ワクチンとして最も効果を示している 0.7 % 区と標準区とを陸稲について見れば，根長では標準区は 5.95 cm に対し，稲熱病ワクチン 0.7 %区は 5.35 cm で明らかに抑制され，草丈では標準区は 5.28 cm に対し，稲熱病ワクチン 0.7 % 区は 5.79 cm で明らかに促進されている。これは生長ホルモン処理と全く同様の結果を得ているのである。また，大根の場合には，不規則で根長と茎長共に抑制されている。しかしながら，くびれ及び肥大現象は明らかに植物生長ホルモンの存在を物語るものである。すなわち濃度別に写生した第3図を見るに，2.3 % 区では根毛は殆どなく，茎は太く，短かく，子葉は十分に展開していないことがはつきり注目される。

この肥大現象については，既に



Fig. 3. The Growth condition of root and stem of radish by sand culture method. From left to right, two by two, concentration percentage of vaccine 2.3 %, 0.7 %, 0.1 %, 0.05 %, control.

Cholodny (1931) が認めており，その部分は殆ど柔細胞に限られていると言つている。なお，Bouillenne 及び Went (1933)，Kögl，Haagen Smit 及び Erxleben (1934a)，竹松 [5] も認めており，とくに濃度の高い生長素を用いると殆ど常に起ることを注意している。また，Thimann (1936) はマメ科植物の根瘤菌によつて形成される根瘤は，その組織中の細菌によつて形成される生長素のために出来るのであつて，まず，生長素が形成された部分に側根ができるが，その生長は生長素によつて抑制され，却つてその部分を肥大させるのであると推定している。

また，くびれ現象については，Barton (1940) は種子を一定時間生長素の溶液に浸漬後，播種することによつて，形成されると主張し，竹松 [5] も大根について，くびれ現象をかなり詳しく研究している。

3. 植物生長ホルモンの種類の識別

以上の実験結果から稲熱病ドライワクチンB中に植物生長ホルモンが存在することは明らかになつたが，如何なる種類かを確めるため，ペーパークロマトグラフ法によつて次のような実験を行つた。すなわち，東洋濾紙製 No. 50 を長さ 50 cm 巾 2 cm のもの 9 枚を用い，下端から 5 cm の所に線を引き，これに直径 5 mm 大の円をえがき，これを原点とする。この原点に可検液である稲熱病ワクチンエーテル抽出液を$\frac{1}{100}$〜$\frac{1}{200}$cc 程度滴下し，乾燥したら次々と滴下し，25 回も繰返し行い，標準区はβインドール醋酸 1 %液を用い，乾燥した後，飽和液 (n-ブタノール 4，醋酸 1，水 1) を入れた硝子罐中に入れ，10時間飽和し，その後飽和液に原点の下側を入れ，飽和液を吸収させる。この時飽和液は可検液を溶かして一緒に溶伸していく。頂端より 10 cm 程度に来たら取出し乾燥し，呈色剤 (P—Dimethylamionobenzaldhyde 0.5 g を濃塩酸 5 ml に溶かし，水で 100 ml までうすめる) を吹きかけることにより可検物質は呈色反応を示すもので，この結果は淡橙色であつた。

$$R_F = \frac{\text{原点と可検物質の中心まで(mm)}}{\text{原点と飽和液の先端まで(mm)}}$$

Table 2. β—indol acetic acid solution

Number of trials	1	2
	R_F	R_F
1	0.85	0.86
2	0.94	0.90
3	0.88	—
Average	0.90	0.89

Table 3. The ether extracted juice of dry vaccine B of the rice blast fungus.

Number of trials	1	2
	R_F	R_F
1	0.89	0.86
2	0.91	0.91
3	0.86	0.93
4	0.87	0.95
5		0.90
6		0.93
Average	0.91	0.92

第2及び第3表によつて分るように，ドライワクチンBエーテル抽出液の R_F は β— インドール醋酸液の価とほぼ一致していることと，呈色反応も似ている点からして，恐らく β—インドール醋酸類似のもので

あろうと思われる。

4. 考　察

稲熱病ドライワクチンB中に植物生長ホルモンが含有しており，それがβ—インドール醋酸類似のものであることが判明した。微生物によるホルモンの形成に関しては，Nielsen[4]は *Rhizopus suinus* 及び *Absidia ramosa* の生長過程中に生産されたホルモンに対してリゾピン（*Rhizopin*）と命名し，インドール醋酸であろうと主張している。Boysen 及び Jensen[1]は *Aspergillus niger* によつてヒスチヂン，リジン，ロイシン，チロシン，フエニール，アラニン及びトリプトファン等からホルモンが生成されるが，グリシン，アラニン，アルギニンからは生成されないことを証明している。なお，*Rhizopus delemar*, *R. nigricans*, *R. reflexus*, *R. tritici*, *Phycomyces*, *Bacillus coli* 等からもホルモンが生成されるという。平田[2]は，多くの植物病原菌によつてできる菌癭（ツバキ，サザンカ，ツツヂ，クロキ，ナシ，サルトリイバラ，キツネノボタン，オニタビラコ，ヤブニッケイ，シウメイギク，ナタネ）及びウイルス罹病植物体の異常生長（大根，馬鈴薯，甘藷）が，植物生長ホルモンを含有していることを Went 法及び Went 法の変法によつて確め，さらに菌癭中における生長素の動静と産生について研究発表している。

川田・八巻[3]等によると，Kögl 及び Haagen Smit (1931)，Dolk 及び Thimann (1932)，Thimann 及び Dolk(1933)等は種々の菌類と細菌類が，培養中にホルモンを形成し得ることを証明した。ホルモンの形成に対しては，或種のアミノ酸が特に有効であり（Boysen, Jensen[1]），そのうち，ペプトンの成分としてのトリプトファンが最も有効である（Thimann 1935[a]）。ペプトン培養基を用いると，標準条件下で *Rhizopus* が形成するホルモンの量は，培養基中に流通させる空気の量に比例するが（Bonner 1932; Thimann 及び Dolk 1933），これはトリプトファンが酸化脱アミノ作用によつて，インドール醋酸になつたためであると説明している（Thimann 1935）。

ペプトンに炭水化物が併用されると，ホルモンの形成は更に促進される。*Rhizopus suinus* では，その生長の衰えた後に，多量のホルモンが形成されるのであつて，その濃度は最高に達してから，再び破壊されて減少する。酵母と培養した場合のホルモンの形成も同様で，その最大生産量は，形成が衰えて後にみられるようである（Robinson）。酵母の場合は，ホルモンの収量は，酵母の増殖とは逆比例しているように思える。

稲熱病ドライワクチンB中に植物生長ホルモンが明らかに存在しており，β—インドール醋酸類似のものであることを確認したのは今回始めてであり，この植物生長ホルモンが稲熱病菌の培養中代謝産物として生産されたものと思われる。著者がこれまで毒素として発表したものの中に，この生長ホルモンが重要因子として含まれていたものと想像される。この生長ホルモンが稲種子処理の際に，種子中に吸収され，まず，種子の発芽に影響し，次に発芽後の生長，延いては発病率や収量にまで影響して行くものならんか，極めて興味ある事実と考えられる。なお，Wolf[8]は，*Exobasidiun camelliae* var. *gracilis* 及び *Ustilago zeae* の培養濾液中にインドール醋酸の形成されることを認めている。

5. 摘　要

1. 本論文は，稲熱病（*Piricularia oryzae* Cavara）ドライワクチンB中に植物生長ホルモンの存在を確めるために行つた実験結果を記載した。

2. ドライワクチンBの各種濃度及び標準区として蒸溜水，2・4—D，MCP を用い，ドライワクチンBの 0.5％の濃度に，植物生長ホルモンの存在を Went による豌豆試験法により，確め得た。

3. ドライワクチンBのクロロフォルム及びエーテル抽出液に，植物生長ホルモン（第1.2図）の存在を Went による豌豆試験法により確め得た。

3. 大根及び陸稲の砂耕栽培法（ドライワクチンBを添加）により，大根及び陸稲の根と茎の生長比（第1表），大根の肥大（第3図）及びくびれ現象から，ドライワクチンB中に植物生長ホルモンの存在を明らかにした。

5. 植物生長ホルモンの種類の検出にペーパークロマトグラフを用い，βインドール醋酸類似のものであることが分つた（第2．3表）。

6. かかる植物生長ホルモンが稲熱病菌の培養中の代謝産物として生産され，これがドライワクチンの種子処理により種子中に吸収され，稲種子の胚組織の細胞を刺戟し，それによつて種子の発芽及び発芽後の生育をよくし，発病率を低下し，収量を増したものと考えられる。

（1957年5月20日受理）

引 用 文 献

1) Boysen Jensen: Biochem. Z., 25: 270. (1932).
2) 平田 正一： 日植病報, 19(1, 2)： 33〜38. (1954)；21(4)：185〜190. (1956).
3) 川田信一郎・八巻敏雄共訳：ウエントティーマン共著 植物ホルモン. (1951).
4) Nielsen: Jahrb. wiss. Bot., 73: 125. (1930).
5) 竹松 哲夫：2, 4—D 普及会：226〜245. (1951).
6) 渡邊 龍雄：農及園, 17(12)： 1502〜1504. (1942)；19(3)：309〜310. (1944)；19(5)：497〜498. (1944)； 21(5)： 193〜194. (1946)； 21(10)：513〜515. (1946)；植物病害研究, 4: 55〜63. (1951)；農及園, 25(7)：594. (1950)；宇大農学術報告, 3(1)：9〜13. (1955)；植物防疫, 10(2)：71〜74. (1956).
7) 渡邊 龍雄：日植病報, 21(2, 3)：98. (1956).
8) Wolf, F. T. : Phytopath., 42: 147〜149. (1952).

Résumé

1. The present paper deals with the results of the experiments which were made to ascertain the existence of plant hormone in dry vaccine B of the rice blast fungus (*Piricularia oryzae* Cavara

2. The writer used the various kind of concentration of dry vaccine B as the test solution, and distilled water, 2, 4—D, MCP as the control.

The writer could ascertain the existence of minute quantity of the plant hormone in 0.5 % dry vaccine B of the rice blast fungus by Went's Pea Test Method.

3. The existence of the plant hormone (see Fig. 1, 2) was ascertained in the chloroform and ether extracted juice of dry vaccine B by Went's Pea Test Method.

4. The existence of the plant hormone in dry vaccine B was ascertained by the sand culture method (contained dry vaccine B), through the growth ratio (see Table 1) in the length of roots and stems of radishes and upland rice plants, especially, through the abnormal growth (hypertrophy, see Fig. 3 or constricted) of radishes.

5. The paper chromatograph method was used to detect the kinds of plant hormone and it was found out something resembling to β-indol acetic acid (see Table 2, 3).

6. Such plant hormone might be produced by the metabolism of rice blast fungus itself.
In case the ricc seed is treated with dry vaccine B, it may be absorbed in the seed and stimulate the cells of embryonal tissues of it.

It is presumable that this stimulus has made good effects on the germination of the seeds, and afterward, on the growth, the yield and the percentage of diseases.

(Faculty of Agriculture, Utsunomiya University)

新 刊 紹 介

E. Köhler und H. Klinkowski: Viruskrankheiten (Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Band II. 1. Lieferung, 6. Auflage) 784 S. m. 326 Abb. 1954. Paul Parey (Berlinund Hamburg) DM 150 (15, 000 円)

本書は Paul Sorauer によつてはじめられた，いわゆる Sorauers Handbuch der Pflanzenkheiten の Series 改訂版第2巻第1分冊でそる。前版までは植物ウイルス病についての記事は極めて少なかつたが，今回はウイルス病のみを扱つた 784 頁におよぶ大冊の単行本として出版された。したがつて全くの新刊であるといつて差支えないであろう。内容は総論と各論の2部にわかれ，総論および各論のうちナス科と，アカザ科とは Köhler がその他は Klinkowski が担当している。総論（1頁〜128 頁）は 1. ウイルスの感染，増殖，移動 2. 病徴 3. ウイルスの形態と物理化学 4. ウイルスの不活化と感染阻害 5. 伝搬 6. ウイルスの種類，その判別と分類 7. 同種ウイルスの分化，変異性 8. 混合感染とウイルスの干渉 9. 抵抗性と寄主選択性 10. 防除などについて記している。各論(133頁〜706頁）では果樹や花卉類を含めて 190 余種の植物のウイルス病及び病原ウイルスについて植物別に詳説し，病害別に引用文献を附している。総論，各論を通じて引用文献の範囲も広く，写真も豊富かつ鮮明であるから，座右において便利な書であろう。

（都丸敬一）

Investigations by means of phase-contrast and polarization microscopes on the penetration of *Phytophthora infestans* into the suscept plants.

Masaki YAMAMOTO*

Introduction

The writer has been studying the late-blight of potatoes, especially the mechanism of resistance of the suscepts to the pathogen these several yearsf rom different points of views.[20-26]

There were some observationts upon the penetration of *Phytophthora infestans* into the suscept plants as follows: Croisier[1] reported that the fungus penetrated the leaves of resistant plants of *Solanum demissum*. Hori[6] stated that in resistant varieties of potatoes the invaded cells become necrotic sooner than in susceptible varieties and suggested that the early death of the suscept cells might inhibit the fungus invasion. Müller et al. have developed the theory that the more rapid is the necrotic reaction of the invaded potato cell, the greater is the resistance of the plant as a whole.[11,12] Meyer[8] observed that the browning occurred in the protoplasms and cell walls of tubers of both susceptible and resistant varieties, but that it occurred more rapidly in resistant varieties. Pristou and Gallegly[14] found that penetration of *P. infestans* (Race O) to the resistant variety Kennebec occurred in the same manner as in the suscept and that the hyphae developed in the penetrated epidermal cell. Mycellium was not found in the necrotic tissue of the surrounding healthy tissue till 72 hours after inoculation. Ferris[3] drew her attention to the difference of the rapidity with which the necrotic responses developed in different varieties. Tomiyama[16] made his cyto-physiological investigations on fungus penetration.

The writer has made investigations on the penetration of pathogens to the suscept in the early stage of infection, using resistant interspecific hybrid and susceptible varieties, in order to get some suggestions as to the mechanism of hypersensitivity in the *Solanum demissum* hybrid by means of polarization and phase-contrast microscopes.

* Laboratory of Plant Pathology, Shimane Agricultural College, Matsue, Japan.

Materials and methods

Petiole-midribs of the 5th leaf of potato plants were inoculated at 18～20°C. with the swarmspores of *Phytophthora infestans* liberated from sporangia at 12°C. Of the potato varieties used, interspecific hybrid 48005-68 and Kennebec are resistant; Warba and Irish Cobbler are susceptible. At definite intervals, the inoculated epidermis were stripped with a razor and were observed *in situ* under phase-contrast and polarization microscopes. In the case of polarization microscope, each preparation of epidermal cells was brought to the focus between the crossed analyser and polarizer and the position was decided at which the maximum birefringence of them was observed.

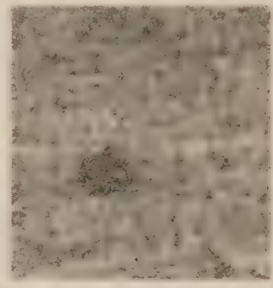


Fig. 1. Potato petiole midrib penetrated by swarmspore of *Phytophthora infestans* observed under phase-contrast microscope. The appearance of protoplasmic strand is shown. The picture was taken 6 hours after inoculation.

All investigations were carried out by use of living materials.

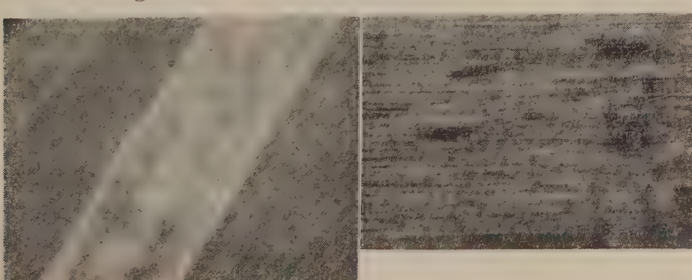
Results

The movement of granules in the protoplasm was very active in the resistant varieties, when the pathogen invades the suscept tissues. The protoplasmic strands and cytoplasmic currents were also recognized in those varieties very frequently. The granules seemed to be mitochondria, judging from the stain with 0.0005 per cent solution of Janus Green B in water. The nuclei of the infected cells of potato tuber migrated towards the

haustoria of *P. infestans* both in resistant and susceptible varieties.

Active protoplasmic strands and protoplamic currents appeared around the infected part of the midrib cell invaded by *P. infestans* (Fig. 1). The direction of protoplasmic strands was nearly perpendicular to the tangential axis of the stimulus of penetration, at first, but later in many cases, they appeared in the right angle to the long axis of cell wall. The translocation of nuclei to the starting points of infection hyphae was recognized. The browning of the tissues accompanying with the penetration of hyphae was also recognized in susceptible varieties, such as Warba and Irish Cobbler, but was faint and the protoplasmic strands was not striking as in the resistant varietes, and the rapid movement of granules (mitochondria) was not witnessed.

Although the cytoplasm and nuclei of the epidermal cells have isotropic properties, the plastids are somewhat anisotropic. The membrane of epidermal cells generally shows strong anisotropic properties in every portion of tissues. In general, the brightness is strong in the membrane of epidermal cell which is nearly parallel to the long axis of midrib tissues. The structural elements which are strongly anisotropic locate at the position which is angled 45° to the polarization axis. In this case, the cell membrane shows strong anisotropy. Anisotropic elements are dark when their two axes (directions) of optical transmission agree with those of polarizer and analyzer, that is, at the diagonal position. On the other hand, the isotropic elements are always dark either at the extinction position ro at the diagonal one. Some structural elements of the tissues are distinctly bright and some were more or less bright and others are dark in the dark field of the crossed Nicol's prism (Fig. 2).



(a) (b)

Fig. 2. Diseased spot of late-blight of potatoes, 24 hours after inoculation, observed under polarization microscope.

The double refraction of cell wall is recognized very clearly when the long axis of cell wall is put in the direction of 45° to the Nicol's prism, but in the diseased spot the double refraction can not be observed (Variety Irish Cobbler) (a). The double rerfaction around the diseased spot is strong when the long axis of cell wall is put in parallel to the Nicol's prism (Variety Kennebec) (b).

The double refraction around the diseased lesion in resistant varieties under polarized light is recognized when the cell wall is put in the direction parallel to the crossed Nicol's prism, but it becomes very faint or vague on account of double refraction of cell wall themselves when the stage rotates 45°. By rotating 45° further, the birefringence around the lesion becomes apparent by the extinction of cell wall birefringence. In this case the extinction angle seemed to be 45° (Fig. 3). The birefringence showed more intensified tone when the lipophile substances were solved away by means of alcohol, and became fainter when they were strongly dehydrated by concentrated glycerin. By such treatment, the double refraction of cell wall became clear. On the whole, the principal component of cell membrane of the epidermis is cellulose, therefore, the degree of the anisotropy may depend upon the micellar arrangement of cellulose.

The cut end of the petioles of potato plants (Interspecfic hybrid 48005–68 and Kennebec) were inoculated with the swarmspores of *Phytophthora infestans*. After 2.5 hours, 4×10^{-4} M2,4 dinitrophenol (Abbr DNP) was put in with pressure. After keeping them at 19°C for 24 hours, the double refraction was compared with the control (distilled water). By treating with DNP, the strength of the birefringence became weak or the appearance of the double refraction was retarded.

In the resistant varieties, the double refraction was inclined not to be clear after the localized lesion came out by hypersensitive reaction of the suscept in response to the penetration of the pathogens.

Discussion

Under phase-contrast microscope, the protoplasmic strands in the cytoplasm and the vivid movement of granules which are supposed to be mitochondria from the stain by Janus Green B were observed in the resistant varieties. From the present investigati-

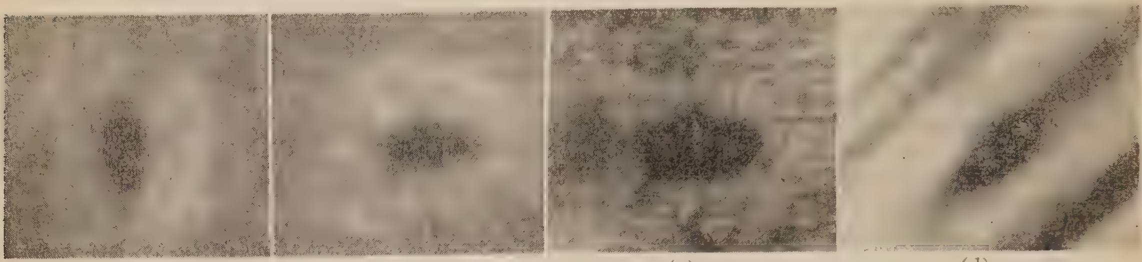


Fig. 3. Late-blight infetion in potato midrib epiermis, observed 24 hours after inoculation under polarization microscope.

(a) Ordinary light (b—d) : Polarized light : (b) (c) Strong double refraction around diseased spot, when the long axis of cell wall is put in parallel to analyzer and polarizer. (d) The elimination of double retraction around the diseased spot by the strong birefringence of cell wall itself, when the long axis of cell wall is put in the direction of 45° to the crossed Nicol's prism.

ons of the diseased spots of late-blight, the writer assumes that the metabolic activity in the surrounding part of the lesion is accelerated by the invasion of the pathogen.

The migration of nuclei was observed in the case of penetration. Meyer[8] reported the nuclei of the infected cell of potato tuber migrated towards the haustoria of *P. infestans*, and swelled into a large size in a susceptible variety. Tomiyama[16] observed that in the midrib cells of highly resistant variety the nucleus migrates towards the attacked part in the early stage of penetration by the fungus.

The fibrillar structure of the ground cytoplasm of living and fixed cells can be safely demonstrated by means of polarization microscope. Since the study of Nägelli on the cell membrane etc. by means of polarization microscpe, this method of investigation has been applied to the studies on fine structure in cells and tissues. Researches made by the polarization microscope are generally used to detect the isotropy or the anisotropy. Igura[7] made the polarization microscopic investigations on the structure of the fresh prothalium and spermatozoid of fern. Nakamura[13] stated that in liquid paraffin, the spindle at anaphase and the phragmoplast show a weak double refraction when observation is made under a low magnification, and the chromosomes show no recognizable double refraction. Hill et al[5]. observed the potato tubers affected with blue stem disease under polarized light.

In a vital condition, cytoplasm, nuclei, spindle fibres etc. are very difficult to observe under polarized light. Isotropy of the cytoplasm mean non-anisotropy in its state and this means that it might become anisotropic according to the change of the condition. In other words, some factors from outsides may change isotropy to anisotropy. The invasion of the pathogen might cause such a kind of stimuli. On the whole, as the principal components of cell membrane of the midrib is cellulose, the degree of anisotropy may depends upon the micellar arrangement of cellulose. Monné[10] stated that as the birefringence phenomena, due to lipides and proteins, are of opposit sign and they compensate each other. The birefringence due to lipides is increased when the polypeptide chains are stretched under the influence of dehydrating agents. The birefringence is reverse when the lipides are dissolved. The birefringence of cell becomes stronger by the treatment with alcohol and becomes faint by the dehydration with glycerin owing to the birefringence of cell wall itself. The strong double refraction due to the alcohol treatment seems to be caused by the dissolvement of the lipides parallel to the perpendicular arrangement to the protein and the positive birefringence to the long axis of the protein micells. From these considerations, the birefringence around the diseased spot might has a character of form birefringence rather than inner birefringence.

Tomiyama[16] stated that most of the protoplasmic strands are directed towards the infected part, and he indicated that, by the infection, the motive forces causing migration is enhanced more in the cells of a resistant variety than in those of a susceptible one, and he supposed that the accelerated energy cycle has connection with the enhancement of the motive force of protoplasmic currents in the infected tissues of a resistant variety.

By means of polarized light, the orientation

of protein and lipides of protoplasmic membrane can be estimated indirectly. Schmidt, Bear and Ponder[15] stated that ghost membrane showed positive tangential form birefringence and negative intrinsic birefringence. The membrane must be made up of a number of lipid layers with radially arranged molecules, interleaved with extended protein chains lying in a tangential direction. Mitchison[9] believed however that the combination of positive form and negative intrinsic birefringence was likely to be due to the protein.

Gothoskar et al.[4] concluded that the treatment of "Jefferson" tomato cuttings with respiratory inhibitors broke down resistance, but El-Din Fouad[2] stated that the mechanism of resistance in tissues of "Madro" and "Froso" to *Cladosporium cucumerinum* is different from one in tissues of tomato variety "Jefferson" to *Fusarium lycopersici*, and he also stated that 2,4 dinitrophenol, sodium diethyl dithiocarbamate and sodium azide had no influence on the genetic resistance to *Cladosporium cucumerinum*. Tomiyama[17] recognized the delaying of the death of suscept cells caused by the penetration of late-blight fungus by means of DNP treatment. DNP inhibits the oxidative phosphorylation and this chemical also inhibits the appearance of energy requirement in the hypersensitivity of the resistant suscept with micellar change in the suscept cells.

Summary

The examinations of the living potato leaf midribs at the initial period of infection by *Phytophthora infestans* by means of phase-contrast and polarization microscopes has made clear the following facts:

Under phase-contrast microscope, in early stage of the penetration of the pathogen, the resistant variety shows the occurrence of the protoplasmic strands and the acceleration of the protoplasmic current of the infected cells. The migration of nuclei towards the infected parts was recognized both in resistant and in susceptible varieties.

The birefringence in the surrounding parts of the diseased spots in the resistant varieties was recognized apparently under polarization microscope. The double refraction was intensified by the treatment with alcohol and was weakened through the strong dehydration by concentrated glycerin and became weak or retarded by the treatment with 4×10^{-4} M DNP solution.

From these results, the writer supposed that the stimulation of energy cycle might be concerned with the acceleration of the protoplasmic movement and the appearance of protoplasmic currents of the infected cells of the highly resistant variety.

The possibility of the change of micellar structure within protoplasm by the invasion of pathogen in the resistant varieties was also suggested.

(Received on May 4,1957)

Literature Cited

(1) Croisier, W.: N. Y. (Cornell) Agr. Exp. Sta. Mem., 155: 1–4. (1934).

(2) El-Din Fouad, M. K.: Medlingen der whogeschool te Wageningen/Nederland, 56 (10): 1–55. (1956).

(3) Ferris, V. R.: Phytopath., 45 (10): 546–552. (1955).

(4) Gothoskar, S. S., Scheffer, R. P., Stahman, M. A. & Walker, J. C.: Phytopath., 45: 303–307. (1955).

(5) Hill, L. M. & Orton, C. R.: Journ. Agr. Res., 57 (5): 387–392. (1938).

(6) Hori, M.: Ann. Phytopath. Soc. Japan, 5: 225–244. (1935). (in Japanese).

(7) Igura, I.: Bot. Mag. Tokyo, 69: 47–53. (1956).

(8) Meyer, G.: Arb. aus Biol. Reichsanst. f. Land. u. Forstwirtsch., 23: 97–132. (1940).

(9) Mitchison, J. M.: S. E. S. Symposia VI. Structural Aspect of Cell Physiology: 105–127. (1952).

(10) Monné, L.: Adv. Enzymol., 8: 1–69. (1948).

(11) Müller, K. O.: Nature (London), 166: 392–395. (1950).

(12) Müller, K. O. & Börger, H.: Arb. aus Biol. Reichsanst. f. Land. u. Forstwirtsch., 23: 189–231. (1941).

(13) Nakamura, T.: Bull. Kyoto Gakugei Univ., 1: 81–88. (1951).

(14) Pristou, R. & Gallegly, M. E.: Phytopath., 44: 81–86. (1954).

(15) Schmidt, F. O., Bear, R. S. & Ponder, E.: J. Cell. Comp. Physiol., 18: 31. (1936).

(16) Tomiyama, K.: Ann. Phytopath. Soc. Japan, 21: 54–62. (1956).

(17) Tomiyama, K.: Agricultural Techniques. 11 (2): 1–5. (1956). (in Japanese).

(18) Tomiyama, K.: Res. Bull. Hokkaido Nat. Agr. Exp. Sta., 67: 28–38. (1954). (in Japanese).

(19) Yamamoto, M. & Kobayashi, Y.: North-Eastern Agriculture, 7 (1): 23–25. (1955). (in Japanese).

(20) Yamamoto, M. & Tatsuyama, K.: Kagaku (Science), 24: 88. (1954). (in Japanese).
(21) Yamamoto, M. & Kimura, M.: Bull. Tohoku Nat. Agr. Exp. Sta., 4: 34–40. (1955). (in Japanese).
(22) Yamamoto, M.: ibid., 4: 41–52. (1955). (in Japanese).
(23) Yamamoto, M. & Tatsuyama, K.: Jubilee Public. Commem. 60 th Birthdays Prof., Tochinai & Prof. Fukushi: 85–91. (1955).
(24) Yamamoto, M.: Bull. Shimane Agr. Coll., 3: 54–59. (1955). (in Japanese).
(25) Yamamoto, M.: ibid., 3: 60–62. (1955). (in Japanese).
(26) Yamamoto, M. & Tatsuyama, K.: ibid., 4: 59–62. (1956). (in Japanese).

摘　　要

馬鈴薯疫病菌の感受体侵入に就いての位相差顕微鏡及び偏光顕微鏡による観察　　山本昌木

Phytophthora infestans の遊走子を疫病に抵抗及び罹病性の馬鈴薯葉中肪部に接種し，一定時間毎に表皮をうすくはぎ取り位相差顕微鏡で観察したが，抵抗性品種では侵入部附近にミトコンドリヤと考えられる顆粒が集合し原形質糸の出現が認められた。同様の材料を偏光顕微鏡下で観察した所，強抵抗性品種では侵入部を中心として強い複屈折が認められた。この複屈折は細胞膜のそれとは質的に異り褐変を示さない組織にも拡り，消光角は45°である。又アルコール処理で強くなり濃グリセリンで脱水すると細胞膜自身の複屈折の為に打消される。予め2,4ヂニトロフェノールで組織を処理してから遊走子を接種するとこの複屈折の出現は遅れるか又はその程度が弱められる。以上の事から疫病菌侵入により強抵抗性品種の細胞内でミセル構造の変動が起り且つ之は組織の代謝活性と関聯性があるように考えられる。

新　刊　紹　介

R.E.F.Mathews: Plant virus serology. Cambrige University Press. 128p. (1957)1,500円

植物ウイルスを材料として，血清学的立場から書かれた本は皆無であつたが，R. E. F. Matthews (Plant Dis. Div., Scientific and Industrial Research, Auckland, New Zealand,) によつて上記の書があらわされた。著者はCambridge大学の Molteno Institute で，ジヤガイモXウイルスおよび Turnip yellow mosaic virus などの血清学的研究にたずさわつて来た人であるが，現在は上記に転じている。本書は血清学の初歩から詳述してあり，まず血清の準備として，注射，採血の方法などをを写真入りで解説している。血清試験では，沈降反応，補体結合反応，アナフィラキシー，中和反応について例をあげて説明している。植物ウイルスの血清学的診断の方法，定量法および植物ウイルス間の類縁関係を決めるための試験の方法を記し，文献によつて，植物ウイルスを血清学的に分類し，一覧表にまとめてある。この表は植物ウイルスを桿状，球状および未知の3つにわけ，それぞれに関連のあるウイルス，使つた寄主植物，試験の方法，研究者，文献と整理してあるので大変便利である。さらに血清試験はやられているが，もう少し研究の必要のあるウイルス，血清を作ることのできなかつたウイルスの一覧表もあり，参考となる。また章を改めて，ウイルスの注射の量，回数と抗体産生の関係を Turnip yellow mosaic virus を使つて，豊富な図解によつて示している。ウイル濃度の決定の方法として，沈降終点，最適比，時間，沈降量，クロマトグラフ法などをあげてそれぞ解説し，交叉吸収試験や混合抗原での沈降反応などを多くの表と図を挿入して，明快に述べている。最後に手技の実際面について，陽性の血清試験の得られない原因，陽性となしうる方法として，抗原の安定度の増加，植物ウイルス濃度の増加，inhibitor の除去，抗原濃度の増加などについて論じ，沈降反応の改良法についても記している。巻末には文献 117 を収め，題目および著者索引がついている。植物ウイルスの血清学的手技について記された文献の少ない現在，実験例を中心に書かれた本書は，植物ウイルス研究者にとつて，よい参考となるであろう。本書の発行は1957年であるが，書かれたのは序文によると1955年5月であるから，その後のことは記されていない。
とくに，Commonner, B. et al. (J.Gen. Physiol. 38: 475. 1955)によつて，植物ウイルスに応用しはじめられた adjurant の記事がないのは惜しい。

（桐山　清）

病態植物の植物ホルモンに関する研究 (第3報)

Exobasidium, *Taphrina* 及び *Ustilago* 属菌の培養基上における生長素の産生

平 田 正 一*

Shōichi HIRATA: Studies on the phytohormone in the malformed portion of the diseased plants.

3. Auxin formation on the culture grown *Exobasidium*, *Taphrina* and *Ustilago* spp.

著者は既報[2,4]において菌癭形成の病原菌類に侵された植物の肥大病患部中に多量の生長素の存在することを述べ，それら生長素の病患部中における動静等について報告した。しかしこれら菌類の生長素産生を確めることは *Albugo candida* を除いては不可能であつた。幸いにして東海近畿農業試験場茶業部の江塚昭典氏は *Exobasidium* 属菌の培養に次々と成功され，著者の本研究のために多数の菌株を御与え頂き，又長尾研究所及び北島博氏から *Taphrina* 及び *Ustilago* 属菌株の御分譲を仰ぎ，著者のえた菌株と合して29株を供試することができ，3属菌は培養基上において生長素を産生することが確められた。これらの研究結果の一部は既に本誌上[4,5]にその要旨を公表した。本報告には其の後の研究結果をも加えて詳述する。本稿を草するにあたり供試菌株の御分譲を頂いた江塚昭典，長尾研究所及び北島博氏ならびに，実験に格別の御尽力を頂いた石丸義則，川西幸敏及び岩橋哲彦3君に厚く感謝の意を表する次第である。

1. 供 試 菌 株

この研究のため供試した菌株は第1表に示す如きものであつた。

2. 蔗糖加用馬鈴薯培養基上における生長素産生

培養：—剥皮馬鈴薯塊茎を水中ですりおろし，上澄液をとり，これを煮沸して凝縮物を沪過して除去する。沪液をアスベストをしいたガラスフイルターで沪過して透明の淡黄色液をとり，蔗糖を添加して高圧殺菌した。液体及び固体両培養基は試験管に10cc宛とり，接種後 23°C で所定期間培養した。

菌の発育度：—斜面培養においては多くの菌は菌叢が斜面全体に緊密に繁殖したが，E—1 及び E—11 は30日後においても菌叢は斜面全体に拡布せず散在のままであつた。液体培養においては第2表に示した如くであり，発育度標示 卅 は液面に緊密なマットを作つたもので，其他の菌は液中及び液面に散在浮游の菌叢を作つた。

測定：—固体培養基の管底に近く 10×6×8 mm のブロックを切りとり，これを常法のWent氏アベナテストに準じて寒天片に拡散させた生長素を測定した。液体培養基は3枚の沪紙で沪過し，沪液を 40°C で 2 cc に濃縮して，この液に 1×2×2 mm の寒天片 10 個を2時間浸漬し，この間1回沪液を交換した。この寒天片をもつてアベナの屈曲度を求めた。

生長素の産生量：—第2表に示した如く，E—5，T—2 及び T—4 を除き3属の26系菌は生長素を産生することが確められた。15日以上の培養の継続によつては一度産生の生長素量は著しい減退を示す結果となつた。

3. Czapek 氏液体培養基上における生長素産生

培養及び測定：—培養基は KNO_3 ～ 3g，KH_2PO_4 ～1g，KCl～0.5g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$～0.5g，Sucrose～20g，及び水～1*l* からなる常法の Czapek 氏液と窒素源として KNO_3 の代りに L—tryptophane～1g を入れた 2 種の培養液を準備し，殺菌は高圧で行つた。培養は 23°C で所定期間行い，馬鈴薯培養基の場合と同様に，沪液をとり濃縮して寒天片浸漬法によつてアベナテストを行つた。

(1) KNO_3-Czapek 液培養の結果 菌の発育は馬鈴薯培養基に比較して著しく劣つた。培養後30日経

---

* 宮崎大学農学部

過するも *Exobasidium* 及び *Taphrina* 属菌は液面にマットを形成せず，*Ustilago* 属菌のみ形成し培養液は菌の発育不良のため稍白濁或は透明であつた。

第1実験：—培養基 10 cc 入り試験管内培養の予備試験で，30日培養後 E—6=4.4°，E—15=7.5°，T—1=9.4°，U—1=12°，U—2=14.4° 及び U—6=15.4° の産生を示した。

第2実験：—第1実験の結果，生長素産生の事実を認めたので全供試菌について，培養液 20cc 入りフラスコ内で15及び30日培養した。その結果は第3表に示した通りである。

第3実験：—第1実験の方法によつて全供試菌について実験した結果は，第2実験によつて得た結果と殆んど同一であつた。

以上の実験を通じて KNO_3-Czapek 培養液中での各菌の生長素産生は馬鈴薯培養基に比較して低いことを知つた。しかし明らかに産生の事実は確められた。又15日以上の培養継続は生長素量の減退を示した。

第4実験：—実験に供した各菌の濃縮沪液に対する Gordon and Weber 氏 IAA 反応は，E—8，13，14，15，16，T—1，U—1，5 及び6の各菌培養基において淡紅色を示した。

(2) Tryptophane-Czapek 液培養の結果

培養液の 30cc 入りフラスコで20日間行つたが，菌の発育は前記2培養基の場合に比較して隔段に良好で，各菌は発育度に比例して濃褐色から飴色の液色を呈し，殆んどの培養液は透明であつた。本培養基上では E—4，6，10，T—1 及び U—6 各菌は液面に菌叢塊を浮上散生したが，其の他の菌はマットの形成なく，液中に繁殖した。

生長素の産生度は第3表に示したが，全供試菌が多量の産生を示した。

培養沪液の10分の1濃縮液に対する Gordon and Weber 氏 IAA 反応は表示の如く，3菌のみ不明瞭であつて，異常肥大を起す菌癭形成菌は著しい呈色を示した。

4. 考　察

本研究において Tryptophane-Czapek 液上での各菌の発育は頗る良好で，アベナテストの結果も多量の生長素を産生することを認めたが，これら培養沪液に認められる Gordon and Weber 氏 IAA 反応はアベナテストの結果とは必ずしも比例していない。固体培養基からのブロックを供試したアベナテストの結果は液浸法のそれに比較して多量の生長素量を示した。液浸法によつて求めたアベナ屈曲度は含有生長素量の或1部を示し，その全量を示すといえないが，各菌産生量の比較値としては有効であろう。異常肥大を起因する菌の沪液が著しい IAA 反応を呈することはこの研究によつて確められた。アベナテストに表示の結果は，試料中の生長物質と抑制物質との相互作用によつて示されると思われるから，IAA 反応とは必ずしも比例しないと窺れる。

既に Wolf[6~8] は *Exobasidium gracile*, *Ustilago zeae* 及び *Gymnosporangium juniperi-virginianae* が，培養基上においてインドール酢酸を産生することを認めた。著者の研究においても *Exobasidium*, *Taphrina* 及び *Ustilago* 属の多数の菌が，Tryptophane を代謝してインドール酢酸を産生することが認められてきた。著者の研究[4,5]による多数の *Fusarium* も生長素を産生するが，これらも IAA 反応を示し，同種物質の産生を予知せしめている。Wolf は *E. gracile* 及び *U. zeae* は窒素源として KNO_3 を使用の Czapek 液培養では2週間以内でインドール酢酸の産生を認めていないが，窒素源として Tryptophane を含む場合初めて産生すると述べた。著者の試験では KNO_3-Czapek 液でも15日培養で，生長素産生が *Exobasidium* 菌でかなり認められ，*Taphrina deformans* 及び *Ustilago* 属菌では明瞭に認められた。しかし Tryptophane-Czapek 液培養に比較すれば IAA 反応は遙かに弱かつた。

供試菌中異常肥大を起因すると考えられない *Ustilago nuda*, *U. tritici* 及び *U. antherarum* が異常のアベナ屈曲と強い IAA 反応を与えることは，寄生生理上興味ある事実と思う。

Taphrina cerasi についてのこの種研究では，服部及び木下[1]の培養菌体の抽出物について，アベナの根の伸長阻害と，アベナテストにおける屈曲を認めた報告がある。著者の実験では Tryptophane-Czapek 液上では発育不良であつたが，アベナ幼葉鞘に 25.3° の屈曲を与えているから，生長素産生の著しい菌であろうと思われる。天狗巣病徴を起因する菌類の生長素については今後更に追究したい。

摘　要

この報告には寄主体植物に異常肥大を起因する病原菌属の生長素産生について述べた。その結果の要約は次の様である。

(1) *Exobasidium* 16系，*Taphrina* 5系及び *Ustilago* 8系の培養菌株を供試し，培養基上における生長

素産生をアベナテストによつて測定した。

(2) 26供試菌は蔗糖加用馬鈴薯培養基上で生長素産生を認め，概して液体培養基上では固体培養基よりも産生量が高く，又15日培養は30日培養よりも高く示された。

(3) N源として L-tryptophane を含む Czapek 液培養では，各菌とも KNO_3 を含む同培養液及び馬鈴薯培養液の場合より著しく生長素産生が高かつた。しかし KNO_3-Czapek 液では15日間培養し，ある程度産生する事実を認めた。

(4) Tryptophane を含む Czapek 液培養の濃縮沪液のインドール酢酸呈色反応は，概括的に各菌の肥大病徴の形成程度に応じて示され，天狗巣病徴を与える菌は示さなかつた。(1957 年 4 月24日受理)

参 考 文 献

1) 服部静夫・木下三郎：植雑誌，51: 58～63. (1940).
2) 平田正一：日植病報，19: 33～38. (1954).
3) ―― ：日植病報，21: 129. (1956).
4) ―― ：日植病報，21: 185～190. (1956).
5) ―― ：日植病報，22: 26. (1957).
6) Wolf, F.T.: Proc. Nat. Acad. Sci., 38: 106～111. (1952).
7) ―― : Phytopath. Z., 26: 219～223. (1956).
8) ―― & F. A. Wolf: Phytopath., 42: 147～149. (1952).

Table 1. Fungous cultures used for the present studies

Culture		Host plant	Typical symptom	Source of the culture
E-1	*Exobasidium vexans*	*Thea sinensis* (Cha)	Blister	TKA-T
E-2	*E. reticulatum*	*T. sinensis* (Cha)	Net-blister	TKA-T
E-3	*E. gracile*	*Camellia sasanqua* (Sazanka)	Gall	TKA-T
E-4	*E. gracile*	*C. sasanqua* (Sazanka)	Gall	MIZ
E-5	*E.* sp.	*C. sasanqua* (Sazanka)	Blister	TKA-T
E-6	*E. camelliae*	*C. japonica* var. *hortensis* (Tsubaki)	Gall	TKA-T
E-7	*E. nudum*	*C. japonica* var. *hortensis* (Tsubaki)	Blister	TKA-T
E-8	*E. japonicum*	*Rhododendron kaempferi* (Yamatsutsuji)	Gall	TKA-T
E-9	*E. pentasporium*	*R. kaempferi* (Yamatsutsuji)	Witches' broom	TKA-T
E-10	*E.* sp	*R. macrosepalum* (Mochitsutsuji)	Gall	TKA-T
E-11	*E.* sp.	*R. macrosepalum* (Mochitsutsuji)	Blister	TKA-T
E-12	*E.* sp.	*R. kiyosumense* (Kiyosumi-mitsubatsutsuji)	Spot or blister	TKA-T
E-13	*E. pieridis*	*Lyonia ovalifolia* var. *elliptica* (Nejiki)	Gall	TKA-T
E-14	*E.* sp.	*L. ovalifolia* var. *elliptica* (Nejiki)	Spot or blister	TKA-T
E-15	*E. symploci-japonicae*	*Symplocos lucida* (Kuroki)	Gall	TKA-T
E-16	*E.* sp.	*Vaccinum bracteatum* (Shashanbo)	Blister	TKA-T
T-1	*Taphrina deformans*	*Prunus persica* (Momo)	Leaf-curl	TKA-H
T-2	*T. pruni*	*P. salicina* (Sumomo)	Bladder	NI
T-3	*T. osumundae*	*Osumunda japonica* (Zenmai)	Blister	TKA-T
T-4	*T. betulae*	*Betula platyphylla* var. *japonica* (Shirakanba)	Blister	NI
T-5	*T. cerasi*	*Prunus yedoensis* (Someiyoshino)	Witches' broom	NI
U-1	*Ustilago nuda*	*Hordeum sativum* (Omugi)	Smut	NI
U-2	*U. tritici*	*Triticum vulgare* (Komugi)	Smut	NI
U-3	*U. hordei*	*Hordeum sativum* (Omugi)	Smut	NI
U-4	*U. hordei*	*H. sativum* (Omugi)	Smut	NI
U-5	*U. shiraiana*	*Sasa* sp.	Smut	NI
U-6	*U. zeae*	*Zea mays* (Tōmorokoshi)	Smut gall	MIZ

U-7 *U. antherarum*	*Moehringia lateriflora* (Oyamafusuma)	Smut	NI
U-8 *U. onumae*	*Cinnamomum japonicum* (Yabunikkei)	Smut gall	MIZ

Remarks: MIZ: Phytopath. Lab., Fac. Agr., Miyazaki Univ., NI: Nagao Inst., TKA-H: Tōkai-Kinki Nat. Agr. Exp. St., Div. Hort., TKA-T: Tōkai-Kinki Nat. Agr. Exp. St., Tea Div. Pests & Blights.

Table 2. Auxin formation of fungi on sucrose-potato medium

Material	Culture on liquid medium			Culture on solid medium**
	15 days after		30 days after	30 days after
	Growth* rate estimated	Curvature of *Avena* coleoptile	Curvature of *Avena* coleoptile	Curvature of *Avena* coleoptile
E-1	+	11.2°	+ 6.6°	8.0°
E-2	+++	17.2	2.5	1.6
E-3	++	18.3	+ 5.8	1.6
E-4	++	8.2	4.3	
E-5	++	0.5	3.6	4.2
E-6	++	3.7	2.8	4.2
E-7	+++	27.1	+ 1.3	2.6
E-8	+++	11.7	7.7	2.3
E-9	++	11.0	2.1	7.0
E-10	++	5.3	+ 0.5	28.9
E-11	+	2.8	13.2	
E-12	+	3.0	4.0	3.0
E-13	±	2.5	6.6	
E-14	+	2.4	+ 1.8	1.8
E-15	++	3.6	1.1	3.0
E-16	+++	8.6	0.3	2.7
T-1	+++	15.8	1.7	19.0
T-2	+	2.0	+ 2.3	
T-3	±	9.0	+ 2.3	
T-4	+	1.3	+ 3.3	
T-5	±	0.4	+ 2.5	
U-1	+++	8.1	+ 2.3	17.8
U-2	++	4.6	+ 2.2	0.2
U-3	+	13.1	+ 2.8	0.6
U-4	+	13.5	+ 2.1	
U-5	+++	22.0	4.2	
U-6	+++	14.5	24.0	15.1
U-7	+++	13.1	31.1	
U-8	++	15.8	9.8	

Remarks: * +++; Fungous colony, forming a mat 2~3mm. thick, covered the surface of the medium ++ and +; No fungous mat was formed, and dangling in the medium.

** Most of the other fungi except E-1, E-11 and U-8 compactly spread on the whole surface of the solid medium in 30 days after the inoculation.

Table 3. Auxin formation of fungi on Czapek's medium

Material	Culture on Czapek's medium containing KNO_3			Culture on Czapek's medium containing L-tryptophane		
	15 days after		30 days after	20 days after		
	Growth rate estimated	Curvature of *Avena* coleoptile	Curvature of *Avena* coleoptile	Growth rate estimated	Curvature of *Avena* coleoptile	Color reaction of IAA
E-1	±	+ 0.8°	+ 0.4°	±	6.1°	1
E-2	+	2.8	1.7	5	12.6	2
E-3	+	0.2	+ 1.6	30	7.7	4
E-4	+	5.8	+ 1.5	40	10.9	7
E-5	++	0.5	1.9	5	14.2	1
E-6	+	2.6	+ 3.6	30	15.4	4
E-7	+	1.1	0.3	10	13.8	2
E-8	+++	17.5	10.5	50	5.6	4
E-9	±	0.0	2.6	±	14.8	±
E-10	+	+ 1.3	1.3	50	7.0	5
E-11	±	1.1	0.2	±	11.3	1
E-12	+	0.2	+ 4.1	+	13.0	1
E-13	±	1.0	1.4	±	22.1	1
E-14	+	3.6	0.0	20	5.8	4
E-15	±	+ 5.3	+ 1.6	50	11.5	5
E-16	±	0.0	+ 2.1	10	7.5	4
T-1	++	+ 1.5	9.3	50	6.1	7
T-2	+	2.1	4.1	±	9.8	4
T-3	−	0.1	0.2	±	13.1	1
T-4	±	3.2	3.3	±	18.1	±
T-5	−	0.9	2.1	±	25.3	±
U-1	+++	19.0	1.4	50	10.0	4
U-2	+++	20.3	12.2	50	5.6	4
U-3	±	3.4	0.2	+	9.4	1
U-4	+	4.6	2.8	10	25.8	1
U-5	+++	23.3	23.2	50	7.7	4
U-6	+++	11.3	11.2	50	9.9	5
U-7	+++	18.8	12.8	20	6.7	4
U-8	++	+ 1.1	2.7	5	14.3	1

Remarks: Gordon & Weber's IAA reaction was tested by mixing the filtrate concentrated to one tenths with the reagent equally, and heating for some time.
1: Pale pink color, 4: Rose red, 5: Spectrum red and 7: Rhodamine purple (according to Ridgway's "Color standards and color nomenclature").

Summary

In the previous reports the present writer stated that the free-auxin in the tissues of abnormal galls, tumors and blisters caused by *Protomyces*, *Albugo*, *Exobasidium*, rust and sumt fungi was contained in much quantity compared with that of the healthy tissues, and reported on the condition of free-auxin in the tissue and also on the auxin formation in the tissue of *Brassica napus* infested with *Albugo candida*. The present article deals with experimental studies on the auxin formation by using the cultures of 15 species of *Exobasidium*, 5 species of *Taphrina* and 8 species of *Ustilago* as indicated in Table 1. The results obtained are summarized as follows.

The material fungi were all cultured for 15—30 days at 23° C. The filtrates of liquid media in which the fungi were grown were

concentrated to one tenths at 40° C., and 10 agar pieces of 1×2×2 mm. in size were immersed into the filtrates. On the other hand an agar block of 10×6×8 mm. in size was cut off from the bottom of the solid culture medium in the test tube, and the contained auxin was made to diffuse on an agar plate (1×6×8 mm.) by putting the block upright on it. The quantity of the auxin contained in these materials was measured by applying the Went's *Avena*-coleoptile method.

The experimental results on the auxin formation of the organisms on sucrose-potato medium are given in Table 2. When they were cultured for 15 days on liquid media, they produced larger quantity of auxin than those cultured for 30 days, and the latter frequently showed plus-curvature in the case of *Avena*-coleoptile test.

When the culture was done for 15 days on Czapek's medium containing KNO_3 as nitrogen source for the nutriment, several fungi slightly produced auxin as shown in Table 3, and the filtrates of these cultures sometimes slightly showed Gordon and Weber's IAA color reaction, but the growth rate and the auxin formation of the fungi were much less than those in the case of the potato media.

The growth rate of the fungi on Czapek's media containing L-tryptophane in substitution for KNO_3 was much better than those in the cases of the media described above, and showed deep brown color. In this case every fungi produced auxin in much quantity as shown in Table 3, and the concentrated filtrates positively showed Gordon and Weber's IAA reaction, especially in the cases of the media on which gall- or tumor-fungi were cultured. This fact seems to the writer that these fungi have the ability of producing indole acetic acid.

Wolf already demonstrated that *Exobasidium gracile* and *Ustilago zeae* produced indol acetic acid on L-tryptophane media. The similar results were also obtained by the writer. On the Czapek's medium containing KNO_3, however, several fungi produced auxin in some quantity, and this data was shown to be contrary to the result obtained by Wolf.

In the present experiments of the writer it was shown that *Ustilago nuda* and *U. tritici* produced auxin in large quantity, and this fact may give some hint on the physiology of parasitism of these fungi.

(Faculty of Agriculture, Miyazaki University)

文 献 紹 介

Bisdithiocarbamate の殺菌機構 (1)

Ludwig, R. A., G. D. Thorn and D. M Miller Studies on the mechanism of fungicidal action of disodium ethylenebisdithiocarbamate. (nabam).

Canad. J. Bot., 32 (1) : 48~54. (1954).

nabam の稀薄水溶液を通気して生じた沈澱物を沪別して得た ethylenethiuram mono sulfide の monomer (ETM) と polymer (Poly ETM) は *Monilinia fructicola* に対して強い胞子発芽阻止力を示した。そこで nabam の粗通気沈澱物と ETM を夫々粉衣したエンドウの種子を *Pythium* に汚染された土壌に播いたところ thiram や chloranil よりも優れた結果をもたらし,また nabam の粗通気沈澱物の懸濁液 (500～625 ppm) に桜桃の成熟果実を浸漬した結果, *M. fructjcola* による腐敗をよく防ぎ, 桃, 杏での試験でも同様な成績を得た。また温室で6週間を経たトマトに 2000ppm の nabam 水溶液をまいて4時間後及び24時間後に散布葉を蒸溜水で洗い。その水の紫外線吸収を測定したところ, ETM に特性的な 280 mμ の山を示し, 葉に残つた黄色の結晶を鏡検すると poly ETM に酷似していた。更に nabam 水溶液の通気産物を詳しく分析して ETM, poly ETM, ethyene thiourea, 元素硫黄, 二硫化炭素及び硫化水素を得たが, これらの炭素と硫黄の balance はほぼ計算値と一致した。それ故高度に水溶性で不安定な nabam の保護殺菌剤としての機能は必要な安定性と水に対する不溶性とを具え, 強い殺菌作用をもつ ETM 或は poly ETM がその分解産物として生ずることによつてよく説明できる。(中村広明)

バクテリオファージによる簡易細菌数比較法*

脇　本　　哲**

Satoshi WAKIMOTO: A simple method for comparison of bacterial populations in a large number of samples by phage technique

1. 緒　　言

バクテリオファージを植物病原細菌の生態研究に利用するための基礎的研究の進展と共に，これを実際に応用した成果も次々と報告されている。Thomas[3,4,5]はトウモロコシ萎凋病菌(*Pseudomonas stewarti*)に特異的に親和性をもつトウモロコシ萎凋病菌ファージを使用して同菌の同定を行い，Thornberry[6]はモモ穿孔病菌(*Xanthomonas pruni*)ファージを同様の目的に利用した。更に Katznelson and Sutton[1]はインゲンマメ葉焼病菌 (*Xanthomonas phaseoli*) ファージとインゲンマメ黄斑病菌 (*Pseudomonas phaseolicola*) ファージをそれぞれの寄主細菌の生態研究に利用すると共に，広く他の植物細菌病にこの方法の適用を試みている[2]。筆者ら[7,8,9]は稲白葉枯病菌(*Xanthomonas oryzae*) ファージ (OP_1 ファージ) を用いてこの利用面の拡張を計ると共に，直接に稲白葉枯病菌の生理生態の研究に応用して幾つかの新しい事実を証明した。即ちその1つバクテリオファージによる生細菌の検索法[7]は試料中に目的菌が生存しているか否かの概略を検索するに使用する簡便な方法であり，他の1つ即ちバクテリオファージによる細菌の定量法[9]は試料中の目的菌の定量を行うより複雑な方法である。後者は生細菌の検索には前者より一層精密な方法である。

本報告は，試料中の夾雑物の量，種類が同一と見做し得る場合に使用可能な，多数の試料中の目的細菌数の比較を目的とした新しい方法である。もちろん前記定量方法[9]を個々の試料に適用すれば判然とする筈であるが，本法はその繁雑さを避け得る簡便な方法である。

2. 材料及び方法

バクテリオファージは稲白葉枯病菌ファージ[8]を用い，病原細菌はこのファージに親和性のある *Xanthomonas oryzae* no. 60 を使用した。ファージの増殖期間は回転式振盪培養機を用い，遠心沈澱には久保田式高速遠心分離機を使用した。OP_1 ファージの計数はすべて *X. oryzae* no. 60 を指示菌として溶菌斑計数法によつた。

実 験 I. 試料が目的菌の純浮游液の場合の model 実験

稲白葉枯病菌を馬鈴薯半合成培地[8]斜面に 48 時間培養し，これから1白金耳採り，Ca Vf Ch 培地[8]に浮游させ，約 2 ml の細菌浮游液を作る。この浮游液の細菌濃度はバクテリオファージの方法[9]で別に定量しておく。Protocol 1 に示すようにこの浮液液から適当な倍数量ずつそれぞれ別の試験管にとり，すべて 2 ml になるように Ca Vf Ch 培地を添加し，更に予め溶菌斑計数法により定量しておいたファージ液の正確な一定量ずつを濃度 10^3〜10^5/ml になるように各試験管に加え，25°C の室内で振盪培養機にかけ，80 rpm の回転数で培養する。3 時間後或は 6 時間後試験管から遠心沈澱管に試料をとり，6000 rpm，10 分間の遠心分離を行い，上澄を一定量ずつ取り，溶菌斑計数法によりファージの濃度を定量する。

Protocol 1. Procedure of phage technique for comparison of bacterial number; model experiment No. 1.

Tube no.	1	2	3	4
Bacterial suspension	0.01	0.02	0.04	0.08
Ca Vf Ch media	1.99	1.98	1.96	1.92
Phage suspension (10^5〜10^7/ml)	0.02	0.02	0.02	0.02
Total quantity of sample	2.02	2.02	2.02	2.02

Figures are in ml.

実 験 II. 試料中に目的菌が来雑物，雑菌と混在する場合の model 実験

稲白葉枯病菌の純粋な浮游液の場合の他，実際の応用では当然試料中に夾雑物，雑菌の多く含まれている場合が予想される。そこでここでは稲葉組織内の生細菌数を比較する場合を想定し，次のような実験を行つた。即ち生稲葉 0.5 g を磨砕し 20 ml の水を加えて

---

* 九州大学農学部植物病理学教室業績
本実験は吉井甫教授の御指導の下に行つたものである。深謝の意を表する。

** 九州大学農学部植物病理学教室

6000 rpm, 10 min で遠心沈澱し上澄を除去後沈澱に Ca Vf Ch 培地 10 ml を加え浮游させる。これを4本の試験管にそれぞれ 1.0 ml ずつ分注し，実験 I と同様に48時間培養菌の Ca Vf Ch 培地での浮游液 0.01, 0.02, 0.04 及び 0.08 ml をそれぞれに注加し，更に Ca Vf Ch 培地 0.07, 0.06, 0.04 及び 0 ml ずつ添加した後，ファージ液 0.02 ml (ファージ濃度 10^3〜10^5/ml になるようにファージ液の添加量は適当に変える) ずつ添加し，以下実験 I と同様に実験する。この処方は Protocol 2 に表示した。

Protocol 2. Procedure of phage technique for the comparison of bacterial number, when mixed with other materials; model experiment No. 2.

Tube no.	1	2	3	4
Homogenized and washed rice leaf material in Ca Vf Ch media	1.9	1.9	1.9	1.9
Bacterial suspension in Ca Vf Ch media	0.01	0.02	0.04	0.08
Ca Vf Ch media	0.07	0.06	0.04	0
Phage suspension (10^4〜10^6/ml)	0.02	0.02	0.02	0.02
Total quantity of sample	2.0	2.0	2.0	2.0

Figures are in ml.

実験 III. 実験に使用する培地の種類の選択

OP_1 ファージを親和性のある稲白葉枯病菌の存在下で増殖させるための培地としては，現在馬鈴薯半合成培地[8] 或は CaVfCh[8] 培地を普通に使用している，前者は稲白葉枯病菌をよく増殖させ得るのに対し，後者はそれが殆んど不可能である。本実験の遂行上そのどちらがより適当であるかを知る目的でその両者を使用して実験 I と同様な実験を行つた。

実験 IV. 実際への応用例

稲白葉枯病菌を同一稲葉の基部，中央部及び先端部に接種した場合，病斑の進展は先端部の方がより速かであることは一般に認められている事実である。これが果して組織内で増殖する稲白葉枯病菌の数に比例しているか否かは検討の余地がある。これはひいては植物の細菌病に対する抵抗性の強弱を病徴の大小で判断するか組織内での細菌の増殖度で判断するかの問題に関係している。

稲白葉枯病菌の3日間斜面培養菌を浮游液とし，10本の針束による向式多針式接種法で稲品種福岡旭の播種後 70〜80 日稲の完全展開葉或は老稲にあつては止葉の基部，中央部及び先端部にそれぞれ主脈の両側に2個所ずつ6葉接種し，一定期間後部位別に接種個所を切取つて集め，各試料を一定量 (0.04〜0.1 g) とし乳鉢で磨砕後遠心洗滌し，沈澱に CaVfCh 培地添加，ファージ添加，振盪培養の過程を経るなど，前記実験 I, II におけると同様にし，3時間後に遠心沈澱し，溶菌斑計数を試みた。本実験に使用した 70〜80 日稲の接種部の示す病徴は，接種4日後のものはまだ全く病徴を示さず，接種9日, 10 日後のものにおいても基部は殆んど病徴を示さず，中央部は少数のものにおいてわずかな黄変を認め，先端部は全部完全な病徴を示していたがまだ接種部外への病斑の拡大は見られないものであつた。接種 13 日後のものにあつてもなお接種部外への病斑の拡大は顕著ではなかつた。老稲における接種 20 日後のものにあつては基部，中央部共に一部のものを除き殆んどが接種部黄変程度の病徴を示し，先端部は接種部外に拡大し病斑は 2 cm 以上の長さに及ぶものもあつた。

3. 実験結果

実験 I の結果　実験 I 即ち各種濃度の細菌を含んだ純粋培養液中の細菌数比較の model 実験により得られた結果は Table 1 及び Table 2 のようである。Table 1 は比較的に試料中の細菌数の近いものを比較した実験結果であり，Table 2 は細菌数の非常に異つた試料について行つた実験結果である。

Table 1.

Results acquired by the phage technique for the comparison of bacterial number; model experiment No. 1-1. The case when bacterial populations of the test tubes are not too much different with each other.

Expt. no.	Tube no.	No. of bact. added	No. of phage added	No. of phage at 3 hrs. after infection	No. of phage at 6 hrs. after infection
1	1	2×10^4*	2.5×10^4	3.5×10^3	8.7×10^3
	2	4×10^4†	do	6.1×10^3	2.1×10^4
	3	8×10^4†	do	9.3×10^3	4.9×10^5
	4	1.6×10^5†	do	3.0×10^4	4.9×10^6
2	1	1.3×10^4*	2.6×10^5	1.3×10^5	N
	2	2.6×10^4†	do	2.8×10^5	do
	3	5.2×10^4†	do	4.7×10^5	do
	4	1.0×10^5†	do	1.0×10^6	do

* Measured　† Calculated

Table 1 において3時間後におけるファージ数は試料中に最初に存在していた細菌数の比率をほぼ表わしているが，6時間後においてはファージ数の比率は更に拡大される。この場合は当然溶菌斑計数法に際して

稀釈が必要となる。Nは稀釈度が少なく目的のファージ定量ができなかつた場合である。

Table 2. Results acquired by the phage technique for the comparison of bacterial number; model experiment No. 1-2. The case when bacterial populations of the test tubes are highly different with each other.

Expt. no.	Tube no.	No. of bact. added	No. of phage added	No. of phage at 3 hrs. after infection	No. of phage at 6 hrs. after infection
1	1	7.6×10^{3}*	1.0×10^{5}	1.2×10^{4}	1.6×10^{5}
	2	3.8×10^{5}†	do	1.9×10^{5}	7.6×10^{5}
	3	$3\ 8\times10^{7}$†	do	6.4×10^{7}	3.0×10^{9}
	4	7.6×10^{7}†	do	1.4×10^{8}	1.4×10^{10}
2	1	4.2×10^{4}*	2.1×10^{4}	—	8.2×10^{4}
	2	1.7×10^{5}†	do	—	8.7×10^{7}
	3	8.3×10^{6}†	do	—	1.4×10^{8}
	4	1.7×10^{7}†	do	—	4.2×10^{9}

* Measured　　† Calculated

Table 2 より試料中の細菌数が極端に異つた場合でもその多少は3時間或は6時間後のファージ数によつりほぼ判定可能である。

実験IIの結果　実験II即ち試料中に夾雑物がある場合の model 実験より得られた結果を Table 3 に示す。

Table 3. Results acquired by the phage technique for the comparison of the bacterial number when mixed with homogenized leaf tissue of rice; model experiment No.2.

Tube no.	No. of bact. added	No. of phage added	No. of phage at 3 hrs. after infection	No. of phage at 6 hrs. after infection
1	4.5×10^{5}*	2.5×10^{4}	1.1×10^{4}	N
2	9.0×10^{5}†	do	2.6×10^{4}	do
3	1.8×10^{6}†	do	5.7×10^{4}	do
4	3.6×10^{6}†	do	1.1×10^{5}	do

* Measured　　† Calculated

Table 3 より夾雑物中に含まれる目的細菌数をも，夾雑物の質，量が同一ならば，3 時間後のファージ数によりその多少が判定可能である。

実験IIIの結果　実験III即ち使用する培地の種類を比較した場合の結果を Table 4 に示す。

Ca Vf Ch 培地或は殺菌蒸溜水中よりも馬鈴薯半合成培地中における方が OP_1 ファージの不活化の速度のおそいことは既に報告[8]したが，本実験においても Ca Vf Ch 培地中では 3.0×10^{4} の細菌数の存在下で 3 時間後のファージ数は添加ファージ数よりも減少している。即ちこれは 25°C における初期 3 時間の不活化ファージ数が増殖新生するファージ数よりも多いことを示している。これに反して，馬鈴薯半合成培地中では同様の細菌の存在下でもその減少はみられず 3 時間後に増加している。

Table 4. Results acquired by the phage technique for the comparison of the bacterial number in different madia.

Kinds of media	Tube no.	No. of bact. added	No. of phage added	No. of phage at 3 hrs. after infection
Ca Vf Ch media	1	3.0×10^{4}	5.2×10^{3}	2.6×10^{3}
	2	6.0×10^{4}	do	1.5×10^{4}
	3	1.2×10^{5}	do	1.1×10^{5}
	4	2.4×15^{5}	do	7.0×10^{5}
Potato-semi-synthetic media	1	3.0×10^{4}	do	1.7×10^{4}
	2	6.0×10^{4}	do	3.7×10^{4}
	3	1.2×10^{5}	do	2.1×10^{5}
	4	2.4×10^{5}	do	N

実験 IV の結果　ファージによる細菌の簡易比較法を実際に応用した実験例を示せばTable 5のようである。

Table 5. Comparison of the number of *Xanthomonas oryzae* in diseased spots from different parts of a single rice leaf.

Time after infection	Part of rice leaf infected	No. of phage added	No. of phage at 3 hrs after infection
4 days*	Top	8.4×10^{4}	2.1×10^{5}
	Middle	do	2.2×10^{5}
	Base	do	2.0×10^{5}
9 days*	Top	1.5×10^{5}	1.3×10^{7}
	Middle	do	4.3×10^{7}
	Base	do	3.0×10^{7}
10 days*	Top	2.4×10^{3}	1.5×10^{5}
	Middle	do	3.0×10^{6}
	Base	do	3.6×10^{6}
13 days*	Top	7.5×10^{2}	3.1×10^{4}
	Middle	do	4.8×10^{4}
	Base	do	1.2×10^{5}
20 days†	Top	3.4×10^{4}	6.2×10^{6}
	Middle	do	1.8×10^{5}
	Base	do	2.6×10^{5}

* Young plant　　† Old plant

Table 5 において，接種後の日数別の実験結果は，稲の生育時期，接種した細菌濃度が異なるので互に比較して論ずることはできないが，先端部中央部及び基部における細菌の増殖度の差は，接種 4 日目の結果に於ては殆んど認められず，9 日目のものでは既に先端部が中央部，基部に比較して増殖した細菌数が少くなり，10 日目及び 13 日目のものでは益々顕著な結果

を示している。この場合病徴の程度は組織内の細菌数と一致しない。老稲における接種後 20 日では中央部及び基部よりも先端部の方が細菌数は多くなる。これは先端部は基部よりも病斑著しく拡大し，結局細菌の組織内での増殖の場が拡大するためと考えられる。

4. 考　察

バクテリオファージの増殖の初段階は寄主細胞への吸着である。その吸着現象は温度，培地の組成，粘度及び細菌の生理状態により変化するのはもちろんであるが，これらが一定ならば寄主細菌数とファージ数に比例して吸着が起り増殖するはずである。目的細菌を含む試料にファージを添加し，一定時間適温で培養すると，その試料の遠心上澄中に含まれる活性ファージ数は，ファージの最初の添加量，新生ファージの増殖，遠心操作の瞬間に於ける夾雑物及び寄主細菌へのファージの吸着，及び一定時間培養中のファージの不活化などの諸要因で規定される。細菌数が少い場合は後2項によつて減じるファージの数が増殖して生じるファージの数よりも多く，従つて一定時間後の遠心上澄中の活性ファージの数は最初添加したファージの数よりも少くなる(Table 2,3)。然しながらこの程度も結局は試料中の細菌数により規定され，細菌数が増加すればそれに従つて得られたファージ数は増加する。

実験に当つては最初添加するファージ数は正確に同一量にしなければならないのは勿論である。その場合の適量は試料中の夾雑物によるファージ粒子の吸着が著しくない場合は添加後の濃度が 10^3～10^5/ml になるようにするのが稲白葉枯病菌とそのファージを対象とした場合には最も適当である。何故ならば，試料中に存在する細菌数にもよるが，3 時間後の定量に際して稀釈の必要がないからである。

ファージ濃度が 10^5～10^6/ml 以上になるように添加した場合は，6 時間後に於ては勿論，3 時間後に於ても 1 段階 (100 倍) ないし 2 段階 (10000 倍) の稀釈を必要とし，その間に誤差の入る可能性も考えられ，多数の試料の場合は繁雑である。実験結果の表中に屢々Nとあるのは稀釈の度の不足のため定量できなかつたものである。試料中の細菌の濃度が相当多い (10^6/ml<) とほぼ判つているような場合には，ファージ添加量 10^3～10^5/ml 以下の方がむしろ適当である。

使用する培地の種類は本実験結果 (Table 4) よりは，Ca Vf Ch 培地よりも馬鈴薯半合成培地の方がファージの不活化がおそくて有利なようであるが，培地作成の手数，試料中の雑菌との関係などからはむしろ前者の方が好ましいように考える。

ほぼ同一の組成の夾雑物中に含まれる或特定の細菌数を比較しようとする場合，而も特に試料の数が多くて細菌数の絶対値よりもむしろ比較値の必要な場合に本法を適用すればそれらの試料のそれぞれについてファージによる定量法を適用せずしてほぼその目的を達することが可能である。

多数の品種間の細菌病に対する抵抗性の強弱を組織内で増殖した細菌数により比較しようとする場合，或は多数の薬剤の細菌病に対する効果を薬剤撒布後植物組織内に或は組織表面に尚生残つている病原細菌数の多少で比較しようとする場合などに特に有利に応用できるはずである。

5. 要　約

稲白葉枯病菌ファージ (OP_1 ファージ) を使用して多数の試料中の稲白葉枯病菌を量的に比較する方法を考案した。

細菌をそれぞれ異つた量含む多数の試料に約 10^3～10^5/ml になるようにファージを添加し，Ca Vf Ch 培地或は馬鈴薯半合成培地中でファージ増殖の適温に於て 80 rpm で振盪培養し，3 時間後 6000 rpm，5 分間遠心沈澱し，上澄を取り溶菌斑を計数してファージ濃度を検すれば，その多少により最初試料中に含まれていた菌数が比較可能である。そのファージ増加の割合は，最初添加するファージの量の差異，細菌数その他不明の原因により菌数と常に一定の勾配をもつた直線的比例関係を示すとは限らないが，菌数の多少は容易に比較可能である。

この方法は植物体内外の生細菌数をもつて植物の抵抗性の強弱，薬剤の効果などを云々する場合，特に簡単で有利に応用できるものと信ずる。

(1957 年 6 月 12 日受理)

引 用 文 献

1) Katznelson, H. and M. D. Sutton: Jour. Bact., 61: 686～701. (1951).
2) Katznelson, H., Sutton, M. D. and S. T. Bayley: Can. Jour. Microbiol., 1: 22～29. (1954).
3) Thomas, R. C.: Ohio Agr. Exp. Sta. 56th Ann. Rept. Bull., 592: 40. (1938).
4) Thomas, R. C.: Phytopath. (abst.), 33: 1119～1120. (1943).
5) Thomas, R. C.: Ohio Agr. Exp. Sta. Tech. Bull., 11: (1947).
6) Thornberry, H. H., Braun, A. C. and R. P. Elrod: Phytopath., 39: 152～154. (1549).
7) 脇本 哲: 九大農・学芸雑誌, 14: 494～498. (1954).
8) 脇本 哲: 九大農・学芸雑誌, 15: 151～160. (1955).
9) 脇本 哲・吉井 甫: 九大農・学芸雑誌, 15: 161～169. (1955).

Summary

A simple method for the comparison of bacterial populations from a large number of samples using the host-specific bacteriophage was described. *Xanthomouas oryzae* No. 60 and its specific phage were used for this purpose.

Samples of bacteria are suspended in CaVfCh medium or potato semi-synthetic medium, and added with phage suspensions to make the final concentration of 10^{3-5} per ml. The samples were then incubated under optimum temperatures and under shaking at 80 rpm to propagate the added phage. Three hours later, aliquots were pipetted out from the centrifuged (6000 rpm, 5min.) supernatant and plated with the indicator strain of bacteria, to make plaque countings.

It was confirmed that the number of plaques are usually proportional to the number of bacteia initially contained in the sample.

This method will be favorably applied for studies on plant resistance against bacterial diseases, effects of bacteriocides, and other subjects, where problems may be dissolved on the basis of bacterial number contained in the plant tissues.

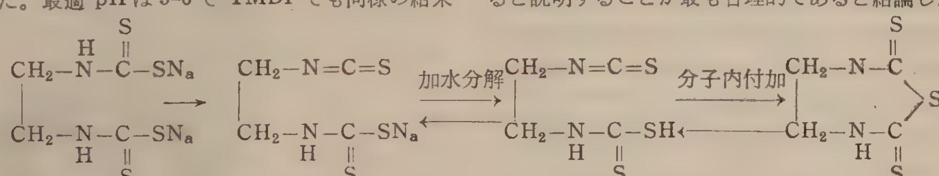
(Faculty of Agriculture, Kyushu University)

文　献　紹　介

Bisdiohiocarbamate の殺菌機構 (2)

Sijpesteyn, A. K. and G.J.M. Van der Kerk: Investigations on organic fungicides. VIII. The biochemical mode of action of bisdithiocarbamates and diisothiocyanates. Biochim. Biophys. Acta, 13: 545～552. (1954).

著者らはさきに bisdithiocarbamate の抗菌作用は先ず対応する diisothiocyanate に変ることによると示唆したが，両者は dialkyldithiocarbamate や thiurammonosulfide と異って histidine による拮抗現象がみられず，生化学的な作用様式は不明であつた。そこで disodium ethylene bisdithiocarbamate (nabam) と tetramethylene biisothiocyanate (TMDI) を両者の代表に選び，これらの殺菌稀釈液と必要な際には拮抗物質を *Penicillium italicum* 又は *Aspergillus niger* の胞子懸濁液に加えた合成寒天培地上で供試菌の生長阻止濃度を測定した。nabamの抗菌性はpHに幾分影響されたが，TMDI は pH に無関係であつた。可能性のある拮抗物質としてGlycine, I-alanine, dl-methionine, dl-tryptophan, dl-threonine, I-cysteine を加えた実験では I-cysteine のみが nabam の作用を阻害した。最適 pH は 5-6 で TMDI でも同様の結果を得た。thiogycollicacid を用いても両化合物の抗菌作用の阻害がみられたが，この酸化物の dithiodiglycollic acid も還元作用の強い ascorbic acid も殆んど活性を示さなかつた。この事はこれらの殺菌剤の作用を阻害するのはSH化合物だけであり，その機構は毒性の少い安定な化学物 (dithiocarbamic acid の ester を形成するためと考えられ，事実 thioglycollic acid との反応生産物の抗菌力は何れももとの nabam や TMDI よりも遙かに低かつた。以上の結果を基に bisdithiocarbamate の抗菌作用に論及した。本化合物の不安定なことから生理的条件で考えられる分解産物として二硫化炭素，ethylene diamine, ethylene thiourea, ethylendiisothiocyanate を調べると最後の物質のみがもとの nabam よりも高い抗菌性をもつが，実際には得られなかつた。しかし Ludwig と Thorn (1953) が nabam 水溶液の通気によつてethylenethiuram monosulfide を単離したことはこの化合物の抗菌作用の型と SH 化合物との拮抗現象が，nabam や isothiocyanate と同じであり，又次の反応を想定することによつて nabam からの isothiocyanate の形成を間接的に証明し得る。これが生細胞中の SH 基を化学的に不活性化するために抗菌作用が起ると説明することが最も合理的であると結論した。



nabam

(中村広明)

雑　　録

ハランの2種病害について

岩田吉人*

Yoshito IWATA: *Phyllosticta Aspidistrae* Oud. and *Macrophoma Aspidistrae* n. sp. on the leaf of *Aspidistra elatior* Blume.

昭和13年秋，筆者は東京市杉並区和田本町で褐色病斑の多数形成されたハラン病葉を採集したが，よく観察すると病斑には大小2種あつて鏡検の結果，大きい病斑は *Phyllosticta* 属菌，小さい病斑は *Macrophoma* 属菌の寄生によるものであることを認めた。これらの病害はその後三重県鈴鹿郡能褒野でも採集したが，恐らく広く分布しているものであろう。

わが国では豊田太吉が大正3年輸出ハランに炭疽病 (*Colletotrichum omnivorum*), 菌核病(*Sclerotinia* sp.) 及び褐色斑点病 (*Ascochyta aspidistrae*)の被害を報告しているが，いまだ *Phyllosticta* 及び *Macrophoma* 属菌による病害については報告がない。そこで病菌の形態につき少しく調べて見た。ここにその結果を報告する。

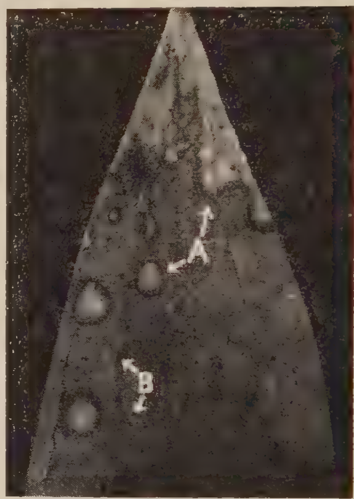
A. 病斑は直径 5～10 mm，円形又は癒合して不規則形，周縁部褐色，中央部灰褐色，葉の先端部では多数のものが癒合して大形病斑を形成し灰褐色に枯死することがある。病斑の裏面を見ると所々に葉脈間に多数の柄子殻が黒色に群集しているのが認められる。

柄子殻は表皮下に形成され，球形乃至扁球形，直径 67～150μ，口孔 (15～45μ) を有する。柄胞子は無色，単胞，大きさ4.5～11×1.2～3μ，楕円形乃至円筒形，一般に両端は円い。また中央部やや縊れ，俵状をなすものもある。胞子内には1乃至数個の油滴がある。柄胞子は群つて柄子殻口より逆出する。

B. 病斑は前者より小さく直径1～3 mm，円形あるいは葉脈に限られてやや角形を呈し，周縁部褐色乃至暗紫色，中央部灰褐色で病斑の表面あるいは裏面に1乃至数個の小黒点(柄子殻)を生ずる。

柄子殻は表皮下に形成され，球形，直径60～120μ，口孔 (15～30μ) を有する。柄胞子は無色，単胞，1～2個の油滴を有し，卵形乃至長卵形時に不整形，11～20×6.5～12.5μ。

本菌を常法により分離し馬鈴薯煎汁寒天培地に培養すると，菌糸の発育は極めて徐々で密な灰色の菌叢を生じ，その上に黒色の柄子殻を形成した。またこの培養菌をハランの葉に附傷接種して上記病斑を形成した。

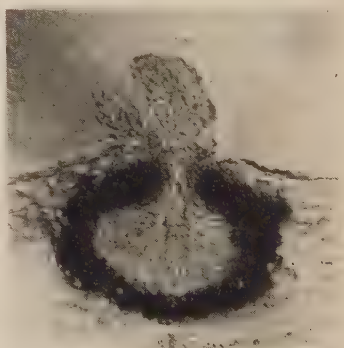


第1図　ハラン病
A　葉円星病病斑
B　斑点病病斑

Fig. 1
A leaf of *Aspidistra elatior* attacked by *Phyllosticta Aspidistrae* (A) and *Macrophoma Aspidistrae* n. sp.(B).

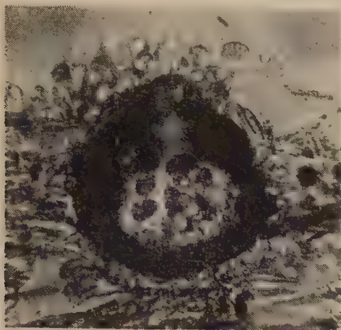
病葉には上記の2種の病斑の一方のみ形成されたものもあるが，一葉に両者混在しているものもある。(第1図) しかし一方は病斑大きく柄子殻が多数形成されるのに反し，他方は病斑小さく柄子殻の形成が極めて少ないから病徴から明らかに両者を区別することが出来る。

ハランには 1902年，オランダで *Phyllosticta Aspidistrae* Oud. が寄生することが報告されている。いま Saccardo の Sylloge Fungorum により *Phyllosticta Aspidistrae* Oud. の記載を見ると "病



第2図　ハラン円星病菌柄子殻
Fig. 2 A pycnidium of *Phyllosticta Aspidistrae*

* 農業技術研究所



第3図　ハラン斑点病菌柄子殻
Fig. 3. A pycnidium of *Macrophoma Aspidistrae* n. sp.



第4図　ハラン円星病菌(A)及び斑点病菌柄胞子×880(B)
Fig. 4 Pycnospores of *Phyllosticta Aspidistrae* (A) and *Macrophoma Aspidistrae* n. sp. (B)

斑は広く，銹色を呈するが古くなると色が淡くなる。柄子殻は大部分葉の裏面に生じ短く連つて葉脈間に並行に並び，黒色，光沢なく，頂端に口孔を有し，直径 200～250μ，柄胞子は楕円形，無色，単胞，両端円く，5～2.5μ" とあり，上記Aとよく一致し，また病菌の形態も柄子殻の直径が小さい点を除いては大体一致している。従つてこれを *Phyllosticta Aspidistrae* Oud. と同定し，円星病と呼ぶこととする

次に後者Bは柄胞子大きく，*Macrophoma* に属するものと考えられるが，ハランに寄生する *Macrophoma* 菌の報告はない。本病の病徴は豊田太吉の褐色斑点病の病徴によく似ている。一方 Massee は *Ascochyta Aspidistrae* Massee の記載に於て "*Aspidistrae lurida* の葉に発生し，大なる不規則形の白い病斑を生じ，柄子殻は集つて葉を横に走る黒線状をなして生じる。胞子は狭く，紡錘形，1個の隔膜を有し大さ12～17×2～2.5μ" と述べ，病斑及び病原菌の略図を掲げ，leaf blotch の病名を与えているが，豊田の褐色斑点病の病徴とは全く異つている。豊田の褐色斑点病は本病ではないかと考えられるが，病原菌の記載を欠いているので明かでない。そこでここには本病を斑点病 (leaf spot) と名付け，また病原菌は未記載と認め，*Macrophoma Aspidistrae* n. sp. と命名することとする。なおこの実験は昭和13年東京帝国大学農学部植物病理学研究室で行つたものである。

(昭和31年8月27日受理)

文　献

Massee, G. Diseases of cultivated plants and trees: 31. (1915).
Saccardo, P.A.: Sylloge Fungorum, 18: 244. (1906).
——— : Ibid., 22: 1029. (1913).
豊田太吉：病虫害雑誌，1(2): 159～161. (1914).

Résumé

The author collected two kinds of fungi attacking leaves of *Aspidistra elatior* at Tokyo in 1938. The one was referable to *Phyllosticta Aspidistrae* Oud., and the other, which produced minute brown spots 1—3mm in diameter, was considered as an undescribed species and the name *Macrophoma Aspidistrae* n. sp. was assigned to it. The diagnosis is as follows.

Macrophoma Aspidistrae Iwata, n. sp.
Maculis minutis, rotundatis vel angularibus internervies, avellaneis centro, fuscis margine, 1—3mm diam. Pycnidiis hypophyllis vel epiphyllis, 1-compluribus in 1 macula, globosis, 60-120μ diam. hypodermicis, cum hiato, quo 15—30μ magno. Pycnosporiso vatis vel ellipticis, hyalinis, continuis, oleosis, 11—20×6.5—12.5u.

Hab. in foliis vivis Aspidistrae elatioris, Tokyo, Japonia (Nov. 21, 1938, Y. Iwata). The type specimen is deposited in the herbarium of National Institute of Agricultural Sciences, Tokyo, Japan.

(National Institute of Agricultural Sciences)

カンランの白渋病について*

沢 村 健 二**

Kenzo SAWAMURA; On the powdery mildew of cabbage.

カンラン (*Brassica oleracea* var. *capitata*) の白渋病は本邦では未記録の病害であるが[3,5,6,7]，1953年7月東北農業試験場園芸部（青森県藤崎町）の温室で採種用鉢植えカンラン（品種末詳）に白渋病菌の寄生を認めた。続いて10月には圃場のカンランにも本病の発生を観察した。その後も圃場に於て本病を認めている。この報告は本病に関し 2，3 の実験及び観察を行い，病原菌の所属について考察したものである。

(1) 発生状況

本病は温室では冬季にも発生するが，圃場では主に春秋の両季に発生し，夏季の発生は殆ど認められない。カンランでは葉，葉柄及茎を侵すが，主に葉の表裏両面に白色粉状の分生胞子世代の菌叢を形成する（第1図）。本病原菌の子嚢殻はカンランでは未だ発見していない。今までの圃場における観察では生育の進んだカンランに発生し，その病状は軽微であるので栽培上さして障害になるとは思われない。

(2) 寄主範囲

本病がカンランの他に自然感染によつて洋種ナタネ (*Brassica napus*) 及びタカナ (*B. juncea*) に発生しているのを発見した。前者は北海道農業試験場（札幌市琴似町）の温室内の幼植物で，後者は当園芸部温室内の発病カンランに隣接した幼植物であつた。

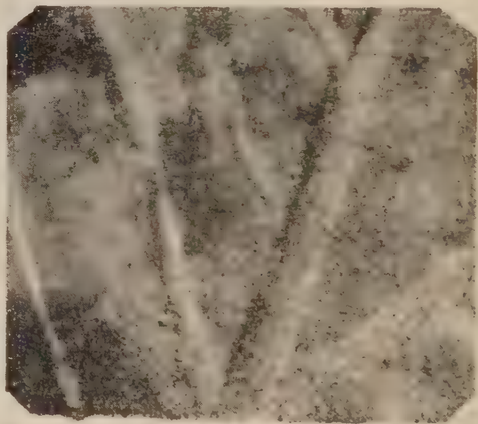
寄主範囲に関し 2，3 の鉢植えの幼植物をつかつて，接種試験を行つた。接種は分生胞子を形成したカンランの葉を四角に切り取り（約5 mm平方），被接種植物葉の表面に軽く押しつけ，数日後に取り去ることによつて行つた。その結果カンラン及び洋種ナタネは容易に発病したが，ハナヤサイ，ダイコン，エンドウ及びタバコには発病させることが出来なかつた（第1表）。アメリカではカンランの白渋病菌 (*Erysiphe polygoni* DC.) はカブ，ハツカダイコン，ハナヤサイ，タカナ及びハクサイ等にも寄生すると云われている[8]。

(3) 病原菌

本間[6]によると，本邦で白渋病が発生する十字科植物はダイコン，ナタネ，タネツケバナ，エゾハタザオの4種で，*Erysiphe cichoracearum* DC. の寄生による。筆者が扱つたカンランの白渋病菌では子嚢殻の形成を見ないので，分生胞子時代及び寄主範囲によつて，その

第1表 カンラン白渋病菌接種試験結果

供試植物	接種月日	発病葉数/接種葉数
カンラン	'54, X1- 16	3/5
洋種ナタネ	〃	3/3
ハナヤサイ	〃	0/5
	'54, X11-25	0/2
	'55, I- 31	0/3
ダイコン	,54, X1- 16	0/5
	'55, I- 31	0/2
タバコ	'54, X1- 16	0/3
エンドウ	〃	0/3
	'55, I- 31	0/3



第1図 カンランの葉に形成された *E. polygoni* の菌叢



第2図 *E. polyoni* の分生胞子の発芽管

* 新潟大学農学部平田幸治教授並に東北農試園芸部星野好博技官より種々御教示をいただき且つ本稿の御校閲をお願いした。

** 東北農業試験場園芸部

所属を考察した。即ち本病原菌の分生胞子にはフイブロシン体を欠くこと，成熟した分生胞子が殆ど連鎖状に形成されないこと，分生胞子の発芽管の形態(第2図)が平田[2,3]のいう polygoni 型に属すること等と寄主範囲を考慮するならば本病原菌は *Erysiphe polygoni* DC. と思われる。尚本病原菌の分生胞子の測定値 (11.7－17.6×29.6－52.2μ) は Davis[1] のハクサイに寄生する *E. polygoni* DC. の分生胞子のそれ(12－18×29－47μ)に近似である。(1957年6月16日受理)

引 用 文 献

1) Davis, W.H.: Phytopath., 18: 611～615. (1928).
2) 平田幸治：千葉高園学術報告, 5: 34～49. (1942).
3) ―――：新潟大農学術報告, 7: 24～36. (1955).
4) ―――：　同　上　, 7: 145～152. (1955).
5) ―――：日植病報,　21: 88～91.　(1956).
6) Homma, Y.: Jour. Fac. Agr. Hokkaido Imp. Univ., 38: 183～461. (1933).
7) 沢田兼吉：林試研究報告, 50: 97～140. (1951).
8) Walker, J. C.: Diseases of Vegetable Crops. McGraw Hill Book Co. Inc. N.Y. (1952).

Summary

Since 1953, a powdery mildew has been observed on the leaves of cabbage plants (*Brassica oleracea* var. *capitata*) and mustard (*B. juncea*) in the greenhouse and gardens at Fujisaki-cho, Aomori, and on rape (*B. napus*) in the greenhouse at Sapporo, Hokkaido. By inoculation experiments the conidia from cabbage proved to infect these two species of plants (cabbage, rape), but not cauliflower, Japanese radish, tobacco and peas.

The mildew found on Japanese radish, rape and *Cardamine flexuosa* in Japan is reported by Homma (1933) as *Erysiphe cichoracearum* DC. The present fungus, though its perithecial stage is not yet observed, seems to be identified as *E. polygoni* DC. Measurements of size and shape of conidia produced on cabbage and the solitary formation of them on conidiophores agree well with Davis' descriptions concerning *E. polygoni* on Chinese cabbage in U. S. A (1928). The shape of germ tubes of conidia also belongs to the *polygoni* type (Hirata, 1942, '55). (Horticultural Division, Tohoku Agricultural Experiment Station)

【後　記】 本報告を起草中に大阪府立大学逸見教授が1954年に京都府下で甘藍に，新潟大学平田教授は1956年に新潟市でみずな及び体菜に白渋病を発見され，何れも病原菌を *E. polygoni* DC. と同定されたことを知つた。両教授の御厚意に感謝の意を表する。

文 献 紹 介

Bisdithiocarbamate の殺菌機構 (3)

Thorn. G. D. and R. A. Ludwig: The aeration products of disodium ethylenebisdithiocarbamate Canad. J. Chem., 32: 872-879. (1954).

disodium ethylenebisdithiocarbamate (nabam) の0.1%水溶液を烈しく通気すると 3―4 日の間に溶液の色は橙色から乳状に変り，遂には黄色物質 (G. D. 26) を析出する。この物質を遠心分離して Chloroform で洗うと殺菌性に富む不溶性の物質即ち，Polyethylenethiuram monosulfide (poly E. T. M.) が得られる。又遠沈の際の沪液には極めて殺菌性の高い物質 ethylenethiuram monosulfide (E. T. M.) と非殺菌性の ethylenethiourea (E.T.U.) が含まれ，前者は Chloroform による抽出再結晶によつて単離される。ETM に特性的な紫外線吸収スペクトルの山は 280mμ と 227.5mμ で tetramethylthiuram monosulfide (TMTM) (280 mμ と 210mμ) に酷似している。ETM は塩酸塩，ピクリン酸塩及びアセチル誘導体を作る。ETM の合成法を種々試みたが完全には成功しなかつた。又 ETM は濃アンモニア水と反応して ethylendithiobiuret (EDB) を生ずるが，これ (EDB) は予期に反して ethylenebisisothiocyanate (EI) と濃アンモニア水との反応からも得られた。この反応は VAN DER KERK らがさきに ETM の生成は nabam の殺菌機構に関する彼等の isothiocyanate 説を裏付けるものとして提出した反応方程式の類推によつて説明し得るとして，nabam は最終的には EI となり，これが病原菌細胞内の -SH 基に作用して殺菌効果を生ずるのであろうという考察を加えている。

化合物名	分　子　式	融点	ED. 50 *
poly ETM	$(C_4H_6N_2S_3)n$	145-7	8-10
ETM	$C_4H_6N_2S_3$	125-6	1.5
TMTM	$C_6H_{12}N_2S_3$		―
EDB	$C_4H_7N_3S_2$	190-2	75-80
EI	$C_4H_4N_2S_2$	―	<1
EIU	$C_3H_6N_2S$	197-8	―

* ED. 50 の値は Monilinia fructi coln の胞子発芽試験による。

(中村広明)

本会記事

地域部会

昭和 32 年 7月 13 日，夏季関東部会が農林省林業試験場で，同年 10 月 6日，九州部会が九州農業試験場で，また同年 10 月 26，27 日の両日，関西部会が京都大学農学部でそれぞれ開かれた。

役員会

次の通りに開かれた。

昭和 32 年　7 月 13 日　　在京役員会
同　年　10 月　7 日　　在京役員会
同　年　11 月 15 日　　在京役員会

会員へのお知らせ

(1) 第 9 回国際植物学会議が 1959 年 8 月 19～29 日に，カナダ McGill 大学及び Montreal 大学で開かれます。プログラムに関する最初の通知は 1958 年の初めに送られますが，プログラム御希望の方は下記へ御連絡下さい。

Dr. C. Frankton
Secretary-General
XI International Botanical Congress
Science Service Building
Ottawa, Ontario, Canada

(2) 来年度の本会評議員選挙の投票用紙は昭和 32 年 11 月 15 日に会員宛に郵送いたしました。

(3) 次号は 4，5 号合併号として昭和 33 年 2 月末日までに発行いたします。

賛助会員

(昭和 32 年 9 月 1 日現在，五十音順)

有光農薬株式会社	大阪市東城区深江中 1 丁目
庵原農薬株式会社	清水市渋川 100
大阪化成株式会社	大阪市南区心斎橋北結
大内新興化学工業株式会社	東京都中央区日本橋堀留町 1 の 14
鹿児島化学工業株式会社	鹿児島市郡元町 880
鐘ケ淵化学工業株式会社技術部	大阪市東区本町 4の27
川口化学工業株式会社	東京都千代田区神田多町1の5
キング除虫菊工業株式会社	和歌山県有田市箕島 101
共立農機株式会社	東京都三鷹市下連雀 379
三共株式会社営業第二部	東京都中央区日本橋本町 4 の 15
シエル石油株式会社	東京都千代田区丸の内東京ビル内
全国購買農業協同組合連合会	東京都千代田区有楽町 1 の11 資材部
全国農業商業協同組合連合会	東京都中央区日本橋本町 2の 5 (協同ビル)
大日本除虫菊株式会社	大阪市西区土佐堀通 2の 11
武田薬品工業株式会社農薬課	大阪市東区道修町 2 の 29
津村交易株式会社	東京都中央区日本橋通 3 の 8
東亜農薬株式会社	東京都中央区京橋 2 の 1の10
東海製薬株株会社	東京都千代田区神田鍛治町 3 の 9
東北共同化学工業株式会社	宮城県柴田郡柴田町大字船岡字広小路 11
日瑞貿易株式会社東京支店	東京都中央区日本橋室町 4 の 5 (近三ビル)
長岡駆虫剤製造株式会社	神戸市生田区京町 79 日本ビル
日産化学工業株式会社総務部庶務課	東京都中央区日本橋本町 1 の 2
日本園芸薬品株式会社	東京都昭島市中神町 1109
日本植物防疫協会	東京都豊島区駒込 3 の 360
日本曹達株式会社企画部	東京都港区赤坂表町 4 の 1
日本農薬株式会社研究所	大阪市西淀川区佃町 5 の8
日本特殊農薬製造株式会社	東京都中央区日本橋室町3の1 北陸ビル内
伴野農薬製造所	静岡市春日町 2 丁目
富士化学工業株式会社	山口県都濃郡南陽町大字富田 4885
藤沢薬品株式会社企画本部	大阪市東区道修町 2 の 1
北海三共株式会社	北海道札幌市豊平 6 条八ケ月 70
北興化学工業株式会社	東京都千代田区大手町 1 の 3 産経会館
三笠化学工業株式会社	福岡市下魚町 6
八洲化学工業株式会社	東京都中央区日本橋本町 2 の 5 (共同ビル)
山本農薬株式会社	大阪市和泉市府中町 1218

昭和 32 年 11 月 25 日 印刷　日本植物病理学会報 (毎年 5 回発行)　定価 140 円　送料 16 円
昭和 32 年 11 月 30 日 発行　第 22 巻，第 3 号

発行所　東京都北区西ケ原町農林省農業技術研究所内　日本植物病理学会
発売所　東京都文京区森川町 70　養賢堂内　日本植物病理学会事務取扱所 (振替東京 83339)
編集兼発行者　東京都目黒区下目黒4丁目農林省林業試験場　今関六也
印刷者　東京都文京区森川町 70 番地　養賢堂代表者 及川伍三治

Vol. XXII, No. 3 November, 1957

ANNALS OF
THE PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

President T. FUKUSHI

CONTENTS

ANNALS OF THE PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN is published five times a year for the present by the Phytopathological Society of Japan.

BUSINESS CORRESPONDENCE concerning subscription and remittance from foreign countries should be made to:

YŌKENDŌ

70, Morikawachō, Bunkyō-ku, Tōkyō, Japan